

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

JAARGANG 58 - 1952

4e AFLEVERING

17 NOV 1952

Eu. 86



Uitgave van de
**NEDERLANDSE PLANTENZIEKTENKUNDIGE
VERENIGING**

Onder Redactie van

Mej. H. L. G. DE BRUYN; Dr J. A. A. M. H. GOOSSENS; Ir P. HUS;
Prof. Dr A. J. P. OORT en Dr H. J. DE FLUITER (Sécretaris)

Redactie-adres: Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek,
Binnenhaven 4a, Wageningen

INHOUD

HOOFDARTIKELEN

	Blz.
D. NOORDAM - <i>Lycopersicum-virus 3</i> (Tomato spotted wilt) bij enkele bloemisterijgewassen. <i>With a summary: Lycopersicum-virus 3 (Tomato spotted wilt) on some ornamental plants</i>	89
Dr Ir J. B. M. VAN DINTHER - Bestrijdingsproeven tegen <i>Eriophyes avellanae</i> Nal. en <i>Eriophyes gracilis</i> Nal. <i>With a summary: Control experiments against Eriophyes avellanae</i> Nal. and <i>Eriophyes gracilis</i> Nal.	96
Dr J. W. SEINHORST - Een nieuwe methode voor de bepaling van de vatbaarheid van roggeplanten voor aantasting door stengelaaltjes (<i>Ditylenchus dipsaci</i> (KÜHN) FILIPJEV). <i>With a summary: A new method for testing the susceptibility of rye plants to attack by the stem eelworm (Ditylenchus dipsaci) (KÜHN) FILIPJEV</i>	103
Dr J. GROSJEAN - Natuurlijk herstel van loodglansziekte. <i>With a summary: Natural recovery from silver-leaf disease</i>	109

ACTUALITEITEN EN VOORLOPIGE MEDEDELINGEN

Verslag jaarlijkse excursie Nederlandse Plantenziektenkundige Vereniging	120
Uit de literatuur: De mogelijkheden tot reorganisatie van de waarschuwingdienst voor de aardappelziekte	120

BESTUUR
VAN DE NEDERLANDSE PLANTENZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Dr J. G. ten Houten, Wageningen, *voorzitter*.

Mej. Dr L. C. P. Kerling, Binnenhaven 4, Wageningen, *secretaresse*.

Dr Ir J. W. Seinhorst, Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen, *penningmeester*. Postrekening no 346310 t.n.v. Penningm. Ned. Plantenziektenkundige Vereniging, Wageningen.

Ir C. W. C. van Beekom, Middelharnis.

G. Houtman, Hoorn.

A. van Herwijnen, St Pancras

Mej. A. L. van Beverwijk, Baarn.

Lidmaatschap Ned. Plantenziektenkundige Vereniging

Nederland, Indonesië, Suriname en Curaçao f 5,—, België f 5,50 of 75 francs, Buitenland f 6,—.

Leden ontvangen het tijdschrift gratis.

Abonnement Tijdschrift

Nederland, Indonesië, Suriname en Curaçao f 7,—, België f 7,— of 90 francs. Buitenland f 10,—.

Betalingen op postrekening 346310 t.n.v. Penningmeester Ned. Plantenziektenkundige Vereniging te Wageningen. Voor België op Postrekening 115754 van de Heer G. Roland, ingénieur agronome te Gembloux.

Advertentiën

Prijzen per plaatsing: $\frac{1}{2}$ pag. f 7,50, $\frac{1}{4}$ pag. f 12,50, $\frac{1}{8}$ pag. f 20,—, 1 pag. f 35,—.

Bij 3 maal plaatsen van dezelfde advertentie 10 procent korting.

Bij 6 maal plaatsen van dezelfde advertentie 20 procent korting.

Voor plaatsing wende men zich tot de secretaris der Redactie-Commissie, p.a. Binnenhaven 4a, Wageningen, tel. 2151, of tot H. Veenman & Zonen, Wageningen, tel. 2242.



N.V. PHILIPS-ROXANE

Vitaminen - Insuline - Leverextract -
en andere orgaanpreparaten -
Pharmaceutisch spécialité's
Plantenziektenbestrijdingsmiddelen -
Veterinaire preparaten - Radio-actieve isotopen -
Voedingspreparaten voor mens en dier.

FABRIEKEN en LABORATORIA
Amsterdam - Olst - Weesp

vraagt voor haar Agro-Biologisch Laboratorium
te 's-Graveland een

ASSISTENT(E)

die belast zal worden met het verrichten van
contrôleproeven op entomologisch gebied.
Enige vaardigheid in het doen van chemische
laboratoriumwerkzaamheden strekt tot aanbe-
veling.

Brieven te richten aan N.V. Philips-Roxane,
Afdeling Arbeid en Sociale Zaken te Weesp,
onder vermelding van nr. 38 in het briefhoofd.

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

Onder redactie van Mej. H. L. G. DE BRUYN; Dr J. A. A. M. H. GOOSSENS;
Ir P. HUS; Prof. Dr A. J. P. OORT en Dr H. J. DE FLUITER (Secretaris)

Redactie-adres: p/a Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek,
Binnenhaven 4a, Wageningen

Drukkers-Uitgevers: H. Veenman & Zonen - Wageningen

58e JAARGANG (1952)

4e AFLEVERING

JULI-AUGUSTUS

LYCOPERSICUM-VIRUS 3 (TOMATO SPOTTED WILT) BIJ ENKELE BLOEMISTERIJGEWASSEN ¹⁾

With a summary: Lycopersicum-virus 3 (Tomato spotted wilt) on some ornamental plants

DOOR

D. NOORDAM ²⁾

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek (I.P.O.) Wageningen

INLEIDING

De laatste jaren werd door mij enige aandacht besteed aan virusziekten, die belangrijke schade veroorzaakten op bepaalde kwekerijen.

De gewassen, bij welke deze ziekten werden opgemerkt waren *Capsicum annum*, *Impatiens Holstii*, *Senecio cruentus* (*Cineraria hybr.*) en *Sinningia hybrida*. In al deze gevallen bleek *Lycopersicum-virus 3* (Tomato spotted wilt) de oorzaak van deze ziekteverschijnselen en het kon waarschijnlijk gemaakt worden, dat *Campanula isophylla* als besmettingsbron optrad, daar op kwekerijen waar *Campanula isophylla* niet voorkwam de ziekte altijd ontbrak. Een verwaarloosde bestrijding van thrips in deze *Campanula*'s kon aansprakelijk worden gesteld voor de verspreiding van de ziekte. Het verband tussen *Campanula isophylla*, aangetast door *Lycopersicum-virus 3*, en het optreden van deze ziekte in tomaten werd door Y. VAN KOOT (ongepubliceerd) vastgesteld in het jaar 1943. In het onderstaande wordt het onderzoek, over deze ziekte verricht, uiteengezet, en een beschrijving wordt gegeven van de ziekteverschijnselen van de gewassen, waarbij *Lycopersicum-virus 3* werd waargenomen.

Sapinoculaties op toetsplanten, en temperatuur-resistentie van het sap

Door de resultaten van sapinoculatie op *Nicotinia tabacum* „White Burley”, *N. glutinosa* en *Petunia hybrida* werd tot het al of niet aanwezig zijn van *Lycopersicum-virus 3* besloten. De sapinoculaties werden uitgevoerd na de toetsplanten vooraf met carborundumpoeder 400 of 500 mesh te hebben bestoven. Meestal werd bij het uitpersen aan de bladeren 1 % Natriumsulfiet (kristal) toegevoegd,

¹⁾ Ontvangen voor publicatie, Februari 1952.

²⁾ Gedetacheerd bij het Proefstation voor de Bloemisterij te Aalsmeer.

wat in vele gevallen de inoculaties beter doet slagen. Op *Nicotiana paniculata*, *N. rustica* en *N. glauca*, werd ook 1 tot 3 maal een inoculatie proef gedaan, telkens op 5 planten. De verschijnselen die werden waargenomen bij de toetsplanten waren de volgende:

Nicotiana glutinosa. Vertoont op de geïnoculeerde bladeren na 6 tot 9 dagen necrotische vlekken, die in het begin soms ringvormig zijn. Deze vlekken, 3 tot 5 mm in diam., breiden zich soms verder uit, vertonen ringvormige zônes en brengen het blad tot afsterven. Stengelnecrose en afsterven van de plant kan hiervan het gevolg zijn. Onduidelijke spreidsymptomen met iets mozaïek en necrose komen ook voor. Deze verschijnselen komen overeen met wat in de literatuur beschreven is, BALD en SAMUEL (1931), NORRIS (1946), SMITH (1937).

Nicotiana paniculata. Op geïnoculeerde bladeren verschijnen na 10 dagen, zoals bij *N. rustica*, slechts vrij onduidelijke vlekken.

Na 14 dagen ziet men de eerste spreidsymptomen: de jongste bladeren zijn bobbelig, naar beneden omgekruld, met gele, later bruine stipjes en hier en daar nerfnecrose. Na 3 weken hangen de geïnoculeerde, nog groene bladeren slap door necrose van nerven en bladsteel. De planten groeien niet meer en gaan meestal dood.

Nicotiana rustica. Vertoont na 10 dagen op de geïnoculeerde bladeren ongeveer dezelfde reactie als *Nicotiana glutinosa*, maar de vlekken zijn minder duidelijk en groter. Na 3 weken vertoonden de geïnoculeerde bladeren ook lijnvormige, iets necrotische concentrische ringen of zigzaglijnen. In de topbladeren worden 3 weken na inoculatie spreidsymptomen zichtbaar, en wel een onduidelijk mozaïek met geringe necrose.

Nicotiana glauca. Na 5 dagen op de geïnoculeerde bladeren bruine tot kleurloze vlekken met onregelmatige rand. Na 10 dagen zijn de vlekken 3–10 mm in diam. en hebben een dood centrum, omgeven door een groene zône en deze weer door een ring van bruin, necrotisch weefsel. Naderhand sterft het geïnoculeerde blad soms af door necrose van de nerven. Spreidsymptomen traden meestal niet op.

Nicotiana tabacum „White Burley”. Na 4–6 dagen ontstaan ronde vlekken, met een wel iets onregelmatige rand van 1–2 mm, die zich steeds verder uitbreiden, en wel het snelst in de nerven, waardoor dikwijls kenmerkende sterfvormige, dode vlekken ontstaan met enkele concentrische zônes getekend. Meestal blijft de reactie beperkt tot de geïnoculeerde bladeren, die na 2 tot 4 weken afsterven. Treden echter spreidsymptomen op, dan bestaan deze uit bruine necrotische streepjes en kringetjes op de min of meer vergeelde topbladeren. (Vergelijk ook fig. de Bruin-Brink, Maas Geesteranus en Noordam (1953)). Deze symptomen komen overeen met wat in de literatuur als waarschijnlijk het meest voorkomende ziektebeeld van *Lycopersicum virus 3* op tabak wordt beschreven, o.a. AINSWORTH (1932), BALD en SAMUEL (1931), SMITH (1931, p. 6), SMITH (1937). Dit ziektebeeld komt goed overeen met de TB en N strain van NORRIS (1946).

Petunia hybr. Na 3–5 dagen ontstaan op de geïnoculeerde bladeren zwart-bruine vlekken van 1–2 mm diam. De vlekken zijn eerst vrijwel rond, maar breiden zich dikwijls nog iets uit en krijgen een onregelmatige omtrek. Na 2–3 weken is het centrum der vlekken droog, witbruin en de rand bruin, terwijl de vlekken dan 3–7 mm groot zijn en zich niet verder uitbreiden. Is het aantal vlekken op een blad groot, dan sterft het blad af. Spreidsymptomen werden nooit

waargenomen. In de literatuur wordt een overeenkomstig ziektebeeld beschreven, o.a. AINSWORTH (1932), NORRIS (1946), SMITH (1932 en 1937).

Wat de temperatuurgevoeligheid betreft van het virushoudende sap: In twee proeven, waarbij sap van *Cinerariabladeren* gedurende 10 minuten werd verwarmd tot 30, 40, 50, 60, 70 °C bleek na inoculatie op *N. tabacum*, *Petunia* (en in een proef ook op *N. glutinosa* en *N. silvestris*), dat alleen het onverwarmde sap en het sap verwarmd tot 30 °C actief was gebleven. Deze lage temperatuur-resistentie komt overeen met die van *Lyc. virus 3*.

*Ziektebeschrijving en proeven bij bloemisterij-gewassen*¹⁾

In het onderstaande zullen de verschijnselen beschreven worden van *Lycopersicum-virus 3* bij een aantal gewassen, die van nature ziek waren, met vermelding van de proeven die met ieder gewas genomen werden.

Begonia tuberhybrida (knolbegonia). Bladeren lichter en normaal groen gevlekt, zonder scherpe begrenzing der vlekken. Dikwijls zijn echter wel scherp-begrensde concentrische ringen van lichtgroen en normaal groen op de bladeren te zien. Hier en daar bruin-necrotische vlekjes; vaak ligt er over delen van het blad een bruin waas. Door de necrose kan het blad in geringe mate gedeformeerd zijn (Fig. 1). In April en Juli waren duidelijk ziekteverschijnselen te zien in de jongste bladeren, in Juni echter in het geheel niet.

Slechts eenmaal is na sapinoculatie op een toetsplant een reactie van *Lyc. virus 3* waargenomen.

Een beschrijving van *Lyc. virus 3* op andere, en niet met name genoemde Begoniasoorten vindt men in de literatuur ANON. (1936, p 30 en 1941 p. 34) OGILVIE (1932), SMITH (1936 en 1937); DODGE en RICKETT (1943) noemen een bladmisvorming en bronskleuring (elders in de literatuur niet vermeld, misschien veroorzaakt door *Lyc. virus 3*. Alleen bij R. E. SMITH (1940) werd een vermelding gevonden van *Lyc. virus 3* bij *B. tuberhybrida*.

Campanula isophylla. Als meest voorkomende verschijnsel ziet men op de bladeren iets lichter groene, vaagbegrensde vlekjes van 1-2 mm, het centrum van deze vlekjes kan een bruingeel stipje zijn. (Fig. 2). Hier en daar ziet men echter op de bladeren een soms duidelijk mozaiek van lichter, normaal en iets donkerder groen, en zeer kenmerkend zijn geelgroene kringen van ongeveer 2 mm diam. en grillig gevormde lijnen. Bij het ouder worden der bladeren verkleuren deze kringen en grillige lijnen tot geel of bleekbruin, evenals het centrum van de vlekken (Fig. 3). Dit maakt, dat men vooral bij bloeiende planten en planten in knop de verschijnselen op de bladeren waar kan nemen. Tijdens het stekseizoen en in het begin van de groeiperiode der planten is dikwijls alleen aan een onregelmatige bobbeling der bladeren de ziekte te herkennen. Afwijkingen in de bloemen werden niet waargenomen. Soms is te zien dat de groei van de zieke plant lijdt onder deze ziekte, maar meestal is groeiremming geen duidelijk ziektesymptoom.

Verscheidene keren werd op toetsplanten na inoculatie met sap van *C. isophylla* een reactie van *Lyc. virus 3* verkregen.

Campanula pyramidalis, waarbij ik *Lyc. virus 3* constateerde, had blijkbaar meer van deze ziekte te lijden dan *C. isophylla*, daar ook enige afsterving plaats vond op de bladeren.

¹⁾ Gebruikt zijn in deze publicatie de namen aangehouden in „Naamlijst van Siergewassen” van het Min. v. Landb., Visserij en Voedselv. 1948.

Over de ziekte bij *C. isophylla* is reeds een en ander gepubliceerd, NOORDAM (1949), NOORDAM en v. D. NES (1949).

In de literatuur is mij geen beschrijving bekend van *Lyc. virus 3* op *Campanula isophylla*, wel o.a. van *Campanula pyramidalis*, SMITH (1932, 1935 en 1936).

Calceolaria herbaceihybrida (*C. hybrida*). Necrotische vlekken op de bladeren en een niet heldere, vlekkerige kleur der bloemen werd geconstateerd bij planten, die 2 maanden vóórdien waren geïnoculeerd met sap van een *Cineraria* met *Lycopersicum virus 3*. Sap van deze *Calceolaria*'s gaf op toetsplanten symptomen van *Lycopersicum virus 3*. Of deze symptoombeschrijving van planten uit deze ene proef algemeen geldt, is de vraag, hoewel de verschijnselen wel enigszins overeenkomen met wat in de literatuur beschreven is, SMITH (1935 en 1937).

Capsicum annuum. Op de bladeren zijn gele tot groenbruine, dikwijls concentrische ringen zichtbaar. Het weefsel binnen de ringen gaat tenslotte dood. Bij de zieke planten trad in sterke mate bladval op. Op grond van deze verschijnselen die overeenkomen met wat in de literatuur beschreven wordt NORRIS (1946), SMITH (1931), en op grond van het feit dat de planten stonden naast *Campanula isophylla* met *Lyc. virus 3*, werd aangenomen dat deze *Capsicums* door *Lyc. virus 3* waren aangetast, NOORDAM (1946). In ANON. (1947 p. 32) wordt het voorkomen van *Lyc. virus 3* op *Capsicum annuum* ook vermeld.

Gerbera jamesonii. Op de bovenzijde van de bladeren bijna zwarte, later bruine, ingezonken vlekjes die dikwijls als hele of gedeeltelijke ringen en concentrische ringen zichtbaar zijn, met een diam. van 3–6 mm. Het centrum van ieder ringencomplex is een zwarte stip. De vlekken kunnen gehele delen van het blad overdekken, zodat de ringencomplexen niet meer afzonderlijk zijn te onderscheiden. Vooral bij doorvallend licht zijn de ringen goed te zien (Fig. 4). Op de onderzijde der bladeren zijn slechts hier en daar kleine necrotische vlekjes zichtbaar. Op afgeplukte bladeren ziet men in de loop van enkele dagen nieuwe vlekken op de bladeren ontstaan. Naast bladeren die ziekteverschijnselen vertonen, hebben de planten bladeren, die geen ziekteverschijnselen laten zien.

Inoculatie met sap van de zieke bladeren op toetsplanten gaf slechts een twijfelachtige reactie. Evenmin gelukte sapinoculatie van zieke op gezonde *Gerbera*. Sapinoculatie met *Lycopersicum virus 3* op *Gerbera* gaf ook een twijfelachtige reactie, zodat het nog twijfelachtig blijft of deze *Gerbera* ziekte door *Lycopersicum virus 3* veroorzaakt wordt. Over het voorkomen van *Lyc. virus 3* op *Gerbera* werd in de literatuur niets gevonden.

Impatiens Holstii. Zie voor de beschrijving van deze ziekte het artikel van BRUIN-BRINK, MAAS GEESTERANUS en NOORDAM (1953).

Senecio cruentus (syn. *Cineraria hybr.*) vertoont een grote variatie in de ziekteverschijnselen. Bijzonder opvallend waren de volgende verschijnselen op de bladeren:

1. Soms lopen er over het normaal groene blad lichtgroene banen, die zich naar de rand van het blad toe waaivormig kunnen verbreden; in deze banen ziet men hier en daar normaal groene vlekken (Fig. 5).

2. Naast min of meer ronde vlekken bevinden zich talrijke grillige, hiëroglphenachtige donkerder groene vlekken op het normaal groene of bleek groene blad (Fig. 6).

3. Lichter groene of gele vlekken van 5–10 mm diam. met bruin necrotische nerfjes.

4. Centrale necrotische vlek van ongeveer 1 mm diam. met een necrotische

ring van 10–15 mm, terwijl het tussenliggende weefsel groen blijft.

Twee of drie van bovengenoemde verschijnselen kunnen naast elkaar voorkomen op één en dezelfde plant. Bij bloeiende planten en planten in knop is het meest opvallend verschijnsel de necrose van de nerven (Fig. 7). Deze necrose is het eerst zichtbaar in de lichter groene vlekken op de bladeren, zet zich van hieruit voort in grovere nerven, de bladsteel en de stengel. De necrose heeft slaphangen, vergelen en afsterven van grotere bladgedeelten ten gevolge, terwijl bij stengelnecrose de plant niet meer groeit en dood gaat. Naast verschijnselen op blad en stengel vertoonden blauwe bloemen soms lichter blauwe vlekken. Deze kleuren zijn scherp, soms zigzagsgewijze, tegen elkaar afgezet, of van elkaar gescheiden door een wit lijntje.

Op toetsplanten werd na inoculatie met sap van zieke bladeren vele malen het beeld van *Lyc. virus 3* gevonden, nooit van een ander virus. Na inoculatie van gezonde Cinerariaplanten met sap van *Nicotiana glutinosa* met *Lyc. virus 3* en, in een proef, met sap van Impatiens die van nature *Lyc. virus 3* had, waren 1½ tot 3 maanden later 6 van 15 planten ziek. Deze zieke planten vertoonden zowel lichtgroene en donkergroene vlekken en banen als ook nerfnecrose; ook de blauwe en roodbruine bloemen waren gestreept. Bij sapinoculatie van twee van deze planten, gaven beide op toetsplanten *Lycopersicum-virus 3* – reactie.

Uit zaad van Cinerariaplanten die van nature *Lycopersicum-virus 3* hadden, werden alle 92 opgekomen planten voortgekweekt. Tot het einde der bloei heeft geen enkele plant ziekteverschijnselen van *Lycopersicum-virus 3* vertoond. Ook op toetsplanten werd geen reactie van *Lycopersicum-virus 3* gevonden, na sapinoculatie van 5 van deze planten die een enkel lichter groen of necrotisch vlekje vertoonden. Deze vlekjes leken ook meer op een normaal afstervingsverschijnsel dan op een virusverschijnsel.

In de literatuur wordt nerfnecrose bij *Senecio cruentus* ten gevolge van *Lyc. virus 3* vermeld ADAM (1937), AINSWORTH (1932), JONES (1944), SMITH (1935), evenals het voorkomen van chlorose, SMITH (1946). Echter, het optreden van chlorose als grote vlekken of banen wordt slechts door JONES (1944) vermeld, die dit verschijnsel toeschrijft aan een ander virus. Over kleurafwijkingen in de bloemen vonden wij niets vermeld in de literatuur. Overgang van de ziekte met zaad wordt in de literatuur alleen beschreven door JONES (1944). Ten dele werd het bovenstaande reeds gepubliceerd, NOORDAM (1949, 1950).

Sinningia hybrida (Gloxinia hybr.). Naast de reeds vele malen beschreven zwarte of bruine, ringvormige vlekken op de bladeren en het soms optredend afsterven der planten (Zie o.a. ANON. (1931, p. 39, 1937, p. 30, AINSWORTH (1933), GREEN (1934), NOORDAM (1943), SCHMITT (1950), SMITH (1935), werden in ernstige gevallen ook op de bloemen bruine necrotische vlekken of kringen waargenomen, NOORDAM (1950). Op afgesneden bladeren ontstonden in de loop van een week talrijke nieuwe vlekken. Bij inoculatie met sap van zieke planten werd op toetsplanten de reactie van *Lyc. virus 3* waargenomen.

In het bovenstaande zijn alleen ziekteverschijnselen van bloemisterijgewassen beschreven, die in Nederland, en soms ook in het buitenland, niet of anders beschreven werden. Een beschrijving van *Lycopersicum-virus 3*, dat in Nederland ook werd beschreven van *Dahlia* ANON. (1940), *Hippeastrum* NOORDAM (1943), *Richardia africana* ANON. (1942, p. 31), NOORDAM (1943) en *Solanum capsicastrum* NOORDAM (1943) is om deze reden hier achterwege gelaten.

SUMMARY

In the last few years several new records of *Lycopersicum virus 3* (Tomato spotted wilt) on flower crops have been noted.

In a number of instances the source of infection was probably *Campanula isophylla*.

The virus was determined by sap-inoculation on certain indicatorplants, mainly *Nicotiana glutinosa*, *N. tabacum* „White Burley” and *Petunia hybrida*. The symptoms on these plants, and on *Nicotiana paniculata*, *N. rustica* and *N. silvestris*, which were also used occasionally, are described.

Begonia tuberhybrida (Syn. *B. tuberosa*) showing concentric rings, some necrosis and malformation of the leaves (Fig. 1) was tested.

Only once did sap-inoculation on an indicator-plant give a reaction for *Lycopersicum virus 3*.

Campanula isophylla usually shows only an inconspicuous wrinkling of the leaf and small faintly bordered light green spots (Fig. 2), but sometimes there is a mosaic of light, normal and dark green areas and towards flowering often characteristic circles and irregular lines (Fig. 3). Sap-inoculation on indicator-plants frequently gave a reaction for *Lycopersicum virus 3*.

The symptoms of *Lycopersicum virus 3* on *Calceolaria herbacei*hybrida (*C. hybrida*) and *Capsicum annum*, already described in the literature, have been observed several times.

Gerbera jamesonii shows black, and later brown spots, often forming concentric rings of 3–6 mm diam. At the centre of each complex of rings is a black dot. The symptoms are most easily seen by transmitted light (Fig. 4). They are limited to certain leaves of a plant. Inoculation with sap from these leaves gave no reaction on indicator-plants; inoculation with *Lycopersicum virus 3* on *Gerbera* gave only a doubtful reaction.

Senecio cruentus (*Cineraria* hybr.) may show: 1. light green bands (Fig. 5); 2. round or irregular dark green spots (Fig. 6); 3. light green faintly bordered spots 5–10 mm in diam. with brown necrotic veins; 4. a central necrotic spot about 1 mm in diam. with a necrotic ring 10–15 mm in diam. round this, the intermediate tissue remaining green. Two or three of the above-mentioned types of symptoms may occur on one plant.

Towards flowering the most characteristic symptom is the necrosis of the smaller veins in the light green spots on the leaves (Fig. 7). This necrosis may extend into veins, leaf-stalk and stem and sometimes induce death of the plant. Blue flowers sometimes show lighter blue spots. Sap from infected plants has frequently given a reaction for *Lycopersicum virus 3*.

The susceptibility of the *Cineraria* was proved by sap inoculation from *Nicotiana glutinosa* and *Impatiens Holstii*, known to be infected with *Lycopersicum virus 3*. 6 Out of 15 plants inoculated became infected, showing light and dark green spots and bands and vein necrosis on the leaves, as well as striping in blue and red flowers. None of 92 seedlings grown from seed of diseased *Cineraria* showed any symptoms.

Sinningia hybr. (*Gloxinia*) infected with *Lycopersicum virus 3* sometimes shows brown necrotic spots and rings on the flowers as well as necrotic rings on the leaves.

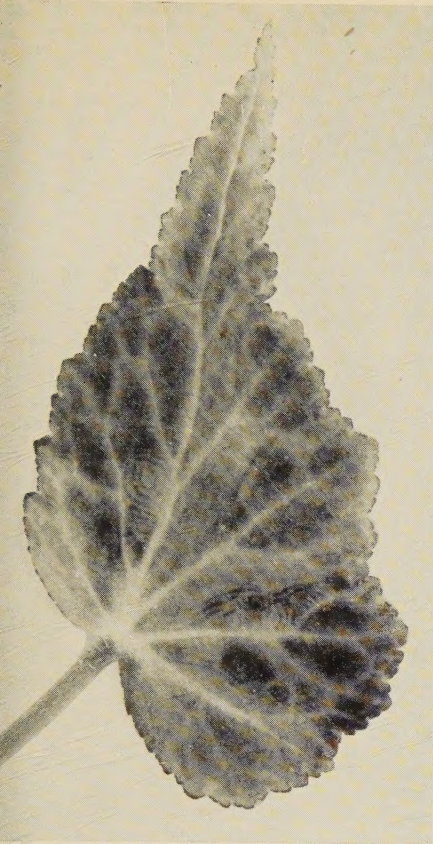
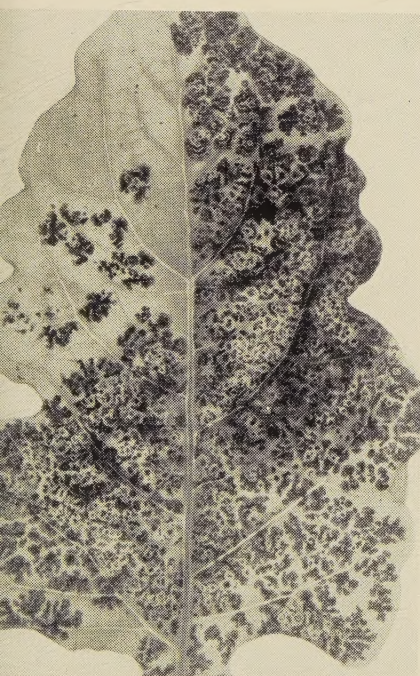


Fig. 1



4

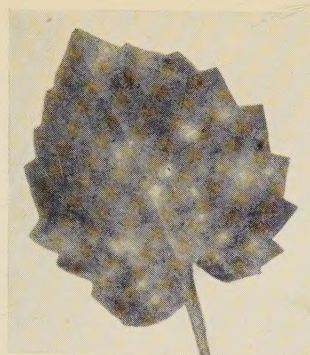


Fig. 2



Fig. 3

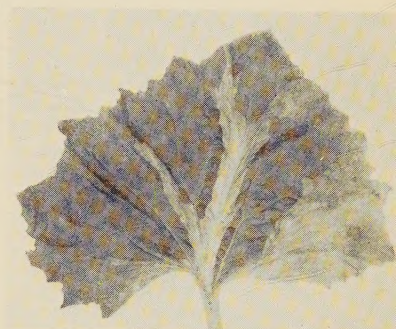


Fig. 5

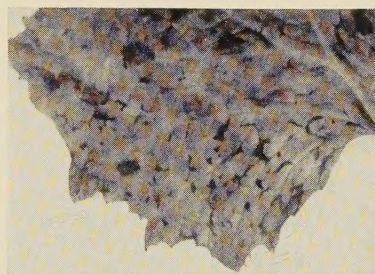
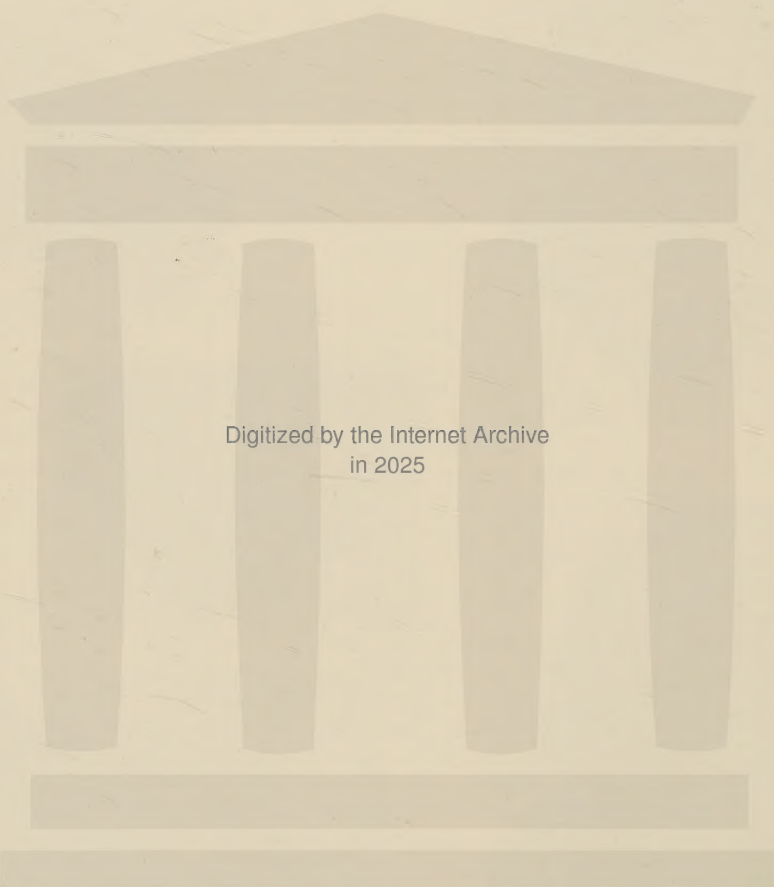


Fig. 6



Fig. 7



Digitized by the Internet Archive
in 2025

LITERATUUR

- ANONYMUS – 1932. Versl. Med. Pl.ziektenk. Dienst. Jaarversl. 1931, 66: 39.
 ——— – 1937. Versl. 1936, 87: 30.
 ——— – 1938. Versl. 1937, 89: 30.
 ——— – 1942. Versl. 1941, 100: 34.
 ——— – 1944. Versl. 1942, 103: 31.
 ——— – 1950. Vlugschrift Pl.ziektenk. Dienst Wageningen no. 66.
 ——— – 1947. Proeftuin Zuid-Hollandsch Glasdistrict. Jaarversl. 1947, 32.
 ADAM, D. B. – 1937. Notes on Plant diseases in South Australia. J. agric. S. Austr. 40: 732–734.
 AINSWORTH, G. C. – 1933. Spotted wilt of tomatoes. Rep. Exp. Res. Sta., Cheshunt 1932: 39–42.
 ——— – 1934. Spotted wilt of tomatoes. Rep. Exp. Res. Sta., Cheshunt 1933: 54–56.
 BALD, J. G. en G. SAMUEL – 1931. Investigations on „spotted wilt” of Tomatoes II, Bull. Counc. Sci. Ind. Res. Melbourne 54: 1–24.
 BRUIN-BRINK, G. DE, H. P. MAAS GEESTERANUS en D. NOORDAM – 1953. Lycopersicum-virus 3 bij Nicotiana tabacum L. en Impatiens. T. Pl.ziekten 59, nog te verschijnen.
 DODGE, B. O. en H. W. RICKETT – 1943. Diseases and pests of ornamental plants.
 GREEN, D. E. – 1934. The virus of spotted wilt in Gloxinias. Gardeners' Chronicle 96: 159.
 JONES, L. K. – 1949. Streak and mosaic of Cineraria. Phytopathology 34: 941–953.
 NOORDAM, D. – 1943. Over het voorkomen van „Spotted Wilt” in Nederland. T. Pl.ziekten 49: 117–119.
 ——— – 1947. Algemeen ziekte-onderzoek. Jaarversl. Proefst. Bloemisterij Aalsmeer 1946: 103.
 ——— – 1950. Jaarversl. Proefst. Bloemisterij Aalsmeer 1949.
 ——— – 1951. Jaarversl. Proefst. Bloemisterij Aalsmeer 1950.
 ——— en A. v. D. NES – 1949. Een voor andere gewassen zeer gevaarlijke Campanula-ziekte. Vakbl. Bloemisterij 4: 210.
 NORRIS, D. O. – 1946. The strain complex and symptom variability of Tomato spotted wilt. Bull. Counc. Sci. Ind. Res. Melbourne 202, 51 pp.
 OGILVIE, L. – 1932. Ring spot or spotted wilt of tomatoes and ornamental plants. Ann. Rep. Agr. Hort. Res. Sta. Long Ashton, 1932: 121–122.
 SCHMITT, R. J. – 1950. Bestrijdt grondig thrips en luis als overbrengers van virus Vakbl. Bloemisterij 5, 244.
 SMITH, K. M. – 1931. Studies on potato virus diseases VIII. On a ringspot virus affecting Solanaceous plants. Ann. Appl. Biol. 18: 1–15.
 ——— – 1932. Studies on Plant virus diseases XI. Further experiments with a ringspot virus: its identification with spotted wilt of the tomato. Ann. appl. Biol. 19: 305–330.
 ——— – 1935. Some virus diseases of ornamental plants. J. Roy. Hort. Soc. 60: 304–310.
 ——— – 1936. The virus diseases of glasshouse and garden plants. Scient. Hort. 4: 126–140.
 ——— – 1937. Textbook of plant virus diseases.
 ——— – 1946. Virus diseases of farm and garden crops.
 SMITH, R. E. – 1940. Diseases of flowers and other ornamentals. Circ. Calif. Agr. Extens. Serv.: 118.

VERKLARING VAN DE FIGUREN

Explanation of figures

- FIG. 1. *Begonia tuberhybrida*. Geelgroene concentrische ringen, en iets bladmisvorming. Necrotische vlekken en bruin waas zijn op blad aanwezig, maar in de fig. niet te zien. *Yellowish-green concentric rings and some malformation of the leaf. Necrotic spots and a diffuse brown discoloration, are also present, but are not visible in the figure.*
- FIG. 2. *Campanula isophylla*. Vaagbegrensd geelgroene vlekken met lichtbruine centrale stip. 2 × vergroot. *Indefinitely bordered yellowish-green spots with light brown centres. 2 × natural size.*
- FIG. 3. *Campanula isophylla*. Geelwitte kringen en zigzaglijnen. *Yellowish-white rings and irregular lines.*
- FIG. 4. *Gerbera jamesonii*. Zwarte tot bruine ingezonken vlekken en kringen. *Black to brown sunken spots and rings.*

- FIG. 5. *Senecio cruentus*. Lichtgroene banen en op rechter bladheft 2 plekken met necrose van fijne nerfjes (donker op fig.).
Light green bands and on the right half of the leaf two spots with necrosis of the smaller veins (dark on fig.).
- FIG. 6. *Senecio cruentus*. Grillige en een paar bijna ronde donkerder groene vlekken.
Irregular and some nearly circular dark green spots.
- FIG. 7. *Senecio cruentus*. Op linker bladheft necrose tot vlekken en nerven beperkt, rechter bladheft grotendeels bruin, dood. Bladsteel links met necrose over gehele lengte.
On the left half of the leaf vein necrosis and necrotic spots; most of the right half of the leaf brown and dead. Leafstalk at the left necrotic over the whole length.

Phytostatus avellanae. *Phyllocolpa* : 11

BESTRIJDINGSPROEVEN 'TEGEN ERIOPHYES AVELLANAE NAL. EN ERIOPHYES GRACILIS NAL.¹⁾

With a summary: Control experiments against Eriophyes avellanae Nal. and Eriophyes gracilis Nal.

DOOR

Dr Ir J. B. M. VAN DINTHER

(Laboratorium v. Entomologie van de Landbouwhogeschool, Wageningen)

In 1951 werden bestrijdingsproeven uitgevoerd tegen *E. avellanae*, de rondknopmijt op hazelaar en tegen *E. gracilis*, de mijt die gele bladvlekken veroorzaakt bij framboos. Hoewel de beide mijten morphologisch zeer verwant zijn, blijken hun levenswijzen sterk te verschillen, hetgeen de bestrijding van deze soorten beïnvloedt.

Biologie van E. gracilis. De zeer kleine, ong. 100 μ lange en 30 μ brede geel-wit gekleurde spoelvormige mijten overwinteren in de knoppen en onder de oude bladsteelbases van de in de herfst afgevallen bladeren. De mijten, die een schuilplaats hebben gezocht in de knoppen, bevinden zich voornamelijk onder de beide eerste (= buitenste) knopschubben evenals tussen het tweede- en derde paar knopschubben. Tussen het derde en vierde paar komen ze in veel geringer aantal voor, terwijl binnen in het hart van de knop, slechts bij hoge uitzondering mijten gevonden worden.

In de tweede helft van April, als de temperatuur overdag geregeld tussen 17° 20 °C stijgt, verschijnen de eerste mijten die zich langs de inmiddels uitgegroeide bladstelen naar de jonge blaadjes begeven. Begin Mei hebben de mijten hun schuilhoeken verlaten en bevinden ze zich vrij op de jonge bladeren, welke na enkele weken t.g.v. de mijtenaantasting gele vlekken vertonen. Hoewel de mijten ook op andere plantendelen zijn aan te treffen, vindt men vanaf medio Mei de mijten vnl. op de onderzijde van de bladeren.

Gelijktijdig met het uitbotten van de knoppen, lopen ook de ogen van de wortelstok uit en worden nieuwe, snel groeiende scheuten gevormd. Deze worden nu vanuit het „tweejarige hout” besmet, doordat de mijten kunnen overkruipen op de bladeren en stengels van deze jonge scheuten. De tweejarige scheuten sterven in de nazomer langzaam af. De mijten die op de jonge scheuten zijn beland, hebben zich inmiddels sterk vermenigvuldigd. In de eerste helft van September verlaten de mijten geleidelijk de bladeren om zich voor de komende

¹⁾ Ontvangen voor publicatie April 1952.

winterperiode te verschuilen tussen de knopschubben en in de nauwe ruimte tussen de bladsteelbasis en okselknop. Tot begin November begeven zich nog steeds mijten naar hun schuilplaatsen. De okselknoppen worden evenwel nooit misvormd en zwellen niet. (Voor uitvoeriger gegevens, zie VAN DINTHER, 1951).

Biologie van E. avellanae. De kleine, ong. 200 μ lange en 50 μ brede wit gekleurde spoelvormige mijten overwinteren uitsluitend diep teruggetrokken binnen in de tijdens de voorafgegane zomer en herfst misvormde hazelaarknoppen (zgn. rondknoppen). Begin April botten de normale, niet door mijten aangetaste knoppen uit. De rondknoppen kunnen nu ook reeds een weinig zwellen, doch het merendeel blijft verder gesloten. Tegen de laatste week van April zijn de normale knoppen zover uitgelopen dat 3 à 4 blaadjes (1,5-2 cm lang, 1-1,5 cm breed) aan een hoofdstengeltje zijn waar te nemen. Eind April zijn de eerste mijten op de buitenkant van de rondknoppen aan te treffen. (De laatste April-week '51 kenmerkte zich door een zeer zonnige periode, waarin dagen met max. middagtemperaturen van 20-24 °C geregistreerd werden. Tot 18 Mei volgde, op enkele dagen na, vrij koud weer met een gemiddelde max. temperatuur van ong. 15 °C, doch na deze datum liep de temperatuur weer op).

In de tweede week van Mei kunnen verscheidene mijten op de inmiddels aan de jonge scheuten (lengte van een scheut uit een eindknop aan een tak ong. 40 cm) flink uitgegroeide bladeren (lengte 5-6 cm, breedte 3-4 cm) worden aangetroffen; het overgrote deel van de mijten verblijft echter nog in de rondknoppen. Half Mei zijn vele rondknoppen zodanig gezwollen, dat de knoppen zich gedeeltelijk openen. Speciaal de mijten, die zich tussen de meer naar buiten gelegen knopschubben en blaadjes bevinden, zijn nu direct aan de buitenlucht blootgesteld. Slechts enkele rondknoppen slagen erin zover uit te botten, dat een kort stengeltje met blaadjes zichtbaar wordt.

Omstreeks half Mei (in '51-18 Mei) beginnen de mijten in grote aantallen de rondknoppen geleidelijk te verlaten. Het zijn zeer waarschijnlijk mijten van een nieuwe generatie, ontstaan uit de eieren, die door de overwinterende mijten omstreeks begin April en later in de knoppen worden afgezet. Ze zwermen in alle richtingen uit over de houtige 1-jarige stengels en belanden na enige tijd op de jonge groene uitgelopen bebladerde scheuten, ontstaan uit de normale, niet besmette knoppen. Op 20 Mei werden verscheidene mijten aangetroffen vlak bij de nog zeer kleine ongeveer 1 mm grote okselknopjes aan de bladstengelbases van de nieuwe bladeren. Deze jonge okselknopjes worden a.h.w. belegerd en enkele dagen later zijn reeds mijten (1-7) in de knopjes binnengedrongen.

Begin Juni bevinden zich nog steeds honderden mijten in de oude rondknoppen en voortdurend verlaten grote aantallen de knoppen. De rondknoppen beginnen nu af te sterven. Zijn de buitenste knopschubben reeds vroeger verdord, thans wordt het meer naar binnen gelegen rondknopweefsel geler van kleur, plaatselijk zelfs roodbruin en het verdroogt geleidelijk in de hierna volgende weken. Half Juni verlaten nog steeds mijten de knoppen, doch einde Juni houdt deze migratie op. De mijten, die zich nu nog in de knoppen bevinden, sterven er een natuurlijke dood.

Inmiddels treft men vanaf eind Mei mijten aan in de jonge okselknoppen, die daarin diep zijn doorgedrongen en goed verscholen zitten tussen het weke, groene knopweefsel. Lengte, breedte en hoogte van de jonge okselknoppen bedragen begin Juni ong. 1-2 mm. De reeds door de mijten geïnfecteerde knoppen zijn als regel wel het sterkts gezwollen (l-br-h. ong. 2 mm) doch zijn uitwendig

nog niet met zekerheid van niet-aangetaste knoppen te onderscheiden. In Juni en Juli zwellen de aangetaste knoppen evenwel sterker dan de niet door mijten aangetaste knoppen en eind Juli zijn reeds vele aangetaste okselknoppen als zodanig uitwendig te herkennen.

De meeste aangetaste knoppen zijn wat ronder, groter (l-br-h. resp. 4-5, 3-4,5 en 3-3,5 mm) dan de niet aangetaste knoppen (l-br-h. resp. 2-4, 1,5-3 en 2 mm). Een correlatie tussen knopgrootte en aantal mijten per knop kan niet worden aangetoond. In het hart van de besmette knoppen kunnen tientallen (max. ong. 60-70) mijten in alle stadia (volwassen dieren, larven, eieren) worden gevonden.

Terwijl eind Juli-begin Augustus de grootte van de okselknop vaak aanwijzing kan geven over het al dan niet besmet zijn van de knop, blijkt bovendien, dat de knopschubben bij besmette okselknoppen in vergelijk met niet aangetaste knoppen, meer uit elkaar geschoven zijn. Besmette knoppen zijn ook wat doffer en droger van uiterlijk.

De door de mijten aangetaste knoppen kunnen zich niet meer normaal ontwikkelen. De in aanleg mannelijke knoppen geven reeds geen, of een gebrekkige uitgroei van de mannelijke katjes te zien. (Deze komen begin Augustus, meestal in een groepje van 3 aan een klein steeltje, uit de normale, niet aangetaste knoppen te voorschijn.)

Eind September treft men grote besmette knoppen aan (l-br-h. resp. 4-8,5, 5-7,5, 4,5-7 mm), waarin reeds 200 à 300 mijten kunnen voorkomen, in de late herfst zelfs 1000 en meer. Deze knoppen vallen nu op enige afstand van de aangetaste hazelaarstruiken direct in het oog. Ze bestaan uit dikke vergrote knopschubben en uit dito, meer naar binnen gelegen knopblaadjes. Op de binnenkanten van deze blaadjes zijn tengevolge van het zuigen van de vele mijten, grilrige wratachtige- koraalvormige uitgroeiingen ontstaan. Hiertussen vindt men de mijten in alle stadia van ontwikkeling. Ook komen aan de basis, tussen de knopschubben enkele kleine zijknopjes voor. Indien de rondknop nog kans ziet gedeeltelijk in het voorjaar uit te lopen, hetgeen bij een klein aantal rondknoppen soms nog wel lukt, dan worden deze zijknopjes direct door de mijten, die uit de vlak erboven gelegen rondknop te voorschijn komen, geïnfecteerd en ze slagen er niet in uit te groeien. De infectiekans van de zijknoppen, die zo vlak bij de infectie hard liggen, is te groot.

A. WINTERBESPUITING

Bestrijding.

I. Tegen *E. gracilis*.

Eénjarige frambozenscheuten, afkomstig uit een door *E. gracilis* aangetaste aanplant, werden begin Maart '51, vóórdat de knoppen gingen uitbotten, in het laboratorium gebracht. De volgende middelen werden beproefd:

- a. Vruchtboomcarbolineum 5 % en 7 %
- b. Minerale olie (W.E. 103) 5 %

De bespuitingen werden uitgevoerd met een handspuit; de takken werden overal goed door de spuitvloeistof geraakt.

Resultaat: 95-100 % van de mijten, die zich buiten de knoppen bevinden en verscholen zitten onder de bladsteelbases, wordt door Vbc 5-7 % en door minerale olie 5 % gedood. Wel moet men hiertoe de takken krachtig en overvloedig bespuiten. Binnen in de knoppen zijn de mijten meestal goed beschut. Soms

evenwel sluiten de buitenste knopscubben niet vast aaneen, zodat ook de hier overwinterende mijten door de Vbc of de min. olie, die tussen de schubben vloeit, gedood worden.

Uit reeds eerder verrichte onderzoeken (VAN DINTHER, 1951) bleek, dat 1 à 2 maal zoveel mijten buiten de okselknoppen overwinteren dan er binnen; bij een winterbespuiting kan dan ook op minstens 50 %-doding van het totaal op de frambozenplant aanwezige mijten gerekend worden. Afgezien nog van de bladluiseieren-bestrijding, is een winterbespuiting met het oog op de mijten bestrijding gunstig.

II. Tegen *E. avellanae*.

Dezelfde middelen, Vbc en minerale olie, aangewend tegen *E. avellanae* op hazelaartakken, hadden niet het minste resultaat. Alle mijten zitten diep verscholen en goed beschermd binnen in de misvormde en opgezwollen rondknoppen. Ze zijn onbereikbaar voor de bespuitingsvloeistof.

B. ZOMERBESPUITING

I. Tegen *E. gracilis*.

In een frambozenaanplant van ong. 5 are werden de volgende middelen bij de vermelde spuitconcentratie beproefd. Gebruik werd gemaakt van een rugspuit.

- a. parathion (Folidol-E 605) – 0,2 %
- b. spuitzwavel (Thiovit) – 0,75 %

De aanplant was hiertoe in drie stroken verdeeld, waarvan de beide buiten stroken resp. met parathion en thiovit werden bespoten, terwijl de midden (= binnen) strook onbehandeld bleef. De bespuitingen werden uitgevoerd op 4 Mei. De frambozenstruiken, die begin April reeds gaan uitbotten, stonden volop in blad. De mijten hebben begin Mei hun schuilplaatsen verlaten en bevinden zich vrij op de bladeren, de bladstelen en de houtige stengels. Enkele uren na de bespuiting volgde een flinke regenbui, waardoor de werking van de spuitvloeistoffen zeer twijfelachtig werd. Een controle van de planten toonde aan, dat op de bespoten stroken ongeveer 20% van de mijten dood was; verschillen tussen de werking van parathion en spuitzwavel werden niet geconstateerd.

Op 10 Mei werden de beide stroken opnieuw bespoten. Een controle op 18 Mei, waarbij per strook van 20 frambozenscheuten elk een 10-tal bladeren werd onderzocht, gaf het resultaat, zoals is weergegeven in tabel 1. Voor het aantal levende mijten per blad werd als groep indeling gekozen: 0, 1-10, 10-20, 20-30, 30-40 en meer dan 40 mijten (> 40).

TABEL 1.

		Aantal levende mijten/blad: (Number of living mites/leaf)					
		0	1-10	10-20	20-30	30-40	> 40
Blanco	aantal bladeren	13	82	62	34	9	—
(untreated)	(number of leaves)						
Parathion	aantal bladeren	38	80	59	20	3	—
(Parathion	(number of leaves)						
Thiovit	aantal bladeren	168	29	3	—	—	—
(wetttable sulphur)	(number of leaves)						

Het blijkt, dat parathion weliswaar de mijtenpopulatie afbreuk doet, doch niet in voldoende mate om als bestrijdingsmiddel in aanmerking te komen. Thiovit daarentegen heeft goed gewerkt, ongetwijfeld als gevolg van een werkingsduur van ong. 1 week. Hoewel onderzoeken uitwezen dat de bladbeschadiging door *E. gracilis* van geringe betekenis is voor de framboos, zou het belang van een frambozenmijtbestrijding groter worden, indien zou blijken, dat de mijt een virusvector is. Dit is niet denkbeeldig, nu MASSEE (mondelinge mededeling) vermeldt, dat het zgn. brandnetel- of peterselieblad van zwarte bes, een virusziekte, kan worden overgebracht door *Eriophyes ribis* NAL.

Een bespuiting met thiovit kan midden Mei met succes worden uitgevoerd. Gezien het feit, dat de mijten zich de gehele zomer vrij buiten op de frambozenplant ophouden, en wel vnl. op de onderkant van de bladeren, kan ook later in het seizoen deze behandeling worden toegepast of eventueel herhaald worden. In het tijdvak van ongeveer 3 weken vóór de frambozenpluk tot aan het einde van de pluk, kan niet gespoten worden in verband met het zwavelneerslag op de vruchten.

II. Tegen *E. avellanae*.

Op een 15-tal hazelaarstruiken werden de volgende middelen bij de vermelde spuitconcentratie beproefd. Gebruikt werd een rugspuit.

- a. Californische pap – 2 %
- b. Spuitzwavel (Thiovit) – 2 %
- c. Parathion (Folidol E 605-geconcentreerd) – 0,05 %

Uit de reeds besproken levenswijze van *E. avellanae* zijn de volgende bijzonderheden van belang voor de bestrijding. Vanaf de tweede week van Mei kunnen mijten, uiteraard onder invloed van de temperatuur, de rondknoppen verlaten. Het uitzwermen van de mijten gaat de verdere weken van Mei door, terwijl ook gedurende de maand Juni steeds mijten de knoppen verlaten. Tijdens dit uitzwermen treft men de mijten aan op het 1-jarig hout, op de jonge scheuten en op de bladeren. Allen zijn evenwel onderweg naar hun voedsel- en schuilplaats: de jonge $\pm$ 1–2 mm grote bladokselsknoppen. Eenmaal binnen in deze okselsknoppen doorgedrongen, zijn ze goed beschermd en niet meer door een contactinsecticide te bestrijden. In 1951 werden 23 Mei de eerste mijten in de jonge okselsknoppen aangetroffen. De bestrijding zal er op gericht moeten zijn, dat de mijten geen kans krijgen de okselsknoppen te besmetten. De eerste bespuiting moet worden uitgevoerd omstreeks 15 Mei. Door de lange uitzwermperiode van de mijten (ong. $1\frac{1}{2}$ maand) is men bovendien genoodzaakt de bespuiting enige keren te herhalen.

De eerste bespuitingen met de 3 genoemde bestrijdingsmiddelen werden uitgevoerd op 16 Mei en herhaald op 23 en 30 Mei. Na elke bespuiting werden enige dagen nadien de jonge okselsknoppen op de aanwezigheid van mijten onderzocht, terwijl ook de activiteit van de mijten bij de (oude) rondknoppen werd gecontroleerd. Hieruit bleek: thiovit en Cal. pap werken goed. Op alle plantendelen blijft een wit-geel zwavelresidu achter en de activiteit van de mijten buiten op de rondknoppen is zeer gering, d.w.z. een groot gedeelte van de mijten, dat de rondknop verlaat, sterft buitenop of in de nabijheid van de rondknop. Bij de knoppen, waar door de sterke zwelling de buitenste schubblaadjes uiteen geschoven zijn,

zodat het binnenste knopgedeelte vrij komt, is een groot aantal van de mijten, dat zich ophoudt tussen de koraalachtige misvormde knopblaadjes, gedood.

Begin Juni waren practisch alle jonge okselknoppen van de hazelaarstruiken, die driemaal bespoten waren met thiovit en Cal. pap, vrij van mijten, terwijl in vele okselknoppen van de niet bespoten (= blanco) struiken, reeds mijten (ong. 1-6) waren binnengedrongen.

Parathion werkt veel minder goed. Hoewel bij de contrôle kort na het spuiten vele mijten, die vrij op het plantenweefsel verbleven, gedood zijn, verlaten 2 dagen later wederom mijten de rondknoppen en zwermen uit. Begin Juni, na 3 parathion bespuitingen, waren dan ook vele jonge okselknoppen besmet.

De goede werking van thiovit en Californische pap moet worden toegeschreven aan de vrij lange werkingsduur van het na de bespuiting op de planten achterblijvend residu. De mijten, die goed verscholen als ze zijn, binnen in de rondknop de bespuiting hebben overleefd, sterven, indien ze de rondknoppen verlaten en buiten op de knop in aanraking komen met het achtergebleven residu. Speciaal het residu van thiovit blijft goed zichtbaar op de plantendelen achter en is zelfs na een regenbui nog aanwezig. Op een werkingsduur van ong. 7-10 dagen, afhankelijk van het weer, kan worden gerekend.

Op 9 en 20 Juni werden, althans bij een gedeelte van de struiken, die reeds op 16, 23 en 30 Mei bespoten waren, de 3 bestrijdingsmiddelen nogmaals aangevend. Eind Juni werden nu alle struiken onderzocht op aangetaste okselknoppen („rondknoppen”), waarbij 50 knoppen per struik werden gecontrôleerd. Tabel 2 geeft de resultaten.

TABEL 2

	Gemiddeld % aangetaste knoppen (Mean % of infested buds)	Aantal struiken (Number of shrubs)
Blanco (<i>untreated</i>)	41	3
Parathion (3 bespuitingen - 16, 23, 30 Mei)		
(<i>Parathion</i>) (3 treatments - 16, 23, 30 May) . .	32	2
Parathion (5 bespuitingen - 16, 23, 30 Mei, 9, 20 Juni)		
(<i>Parathion</i>) (5 treatments - 16, 23, 30 May, 9, 20 June)	34	2
Cal. pap (3 bespuitingen - 16, 23, 30 Mei)		
(<i>Lime sulphur</i>) (3 treatments - 16, 23, 30 May) . .	26	2
Cal. pap (5 bespuitingen - 16, 23, 30 Mei, 9, 20 Juni)		
(<i>Lime sulphur</i>) (5 treatments - 16, 23, 30 May, 9, 20 June)	15	2
Thiovit (3 bespuitingen - 16, 23, 30 Mei) .		
(<i>Wettable sulphur</i>) (3 treatments - 16, 23, 30 May) . .	27	2
Thiovit (5 bespuitingen - 16, 23, 30 Mei, 9, 20 Juni)		
(<i>Wettable sulphur</i>) (5 treatments - 16, 23, 30 May, 9, 20 June)	11	2

Hoewel de omvang van de proef bescheiden was (aantal herhalingen 2), blijkt toch duidelijk, dat een parathion bestrijding niet veel succes heeft.

Zowel Californische pap als thiovit geven daarentegen na 3 bespuitingen een

beter resultaat, terwijl de werking van de 4e en 5e bespuiting, speciaal van thiovit, zeer belangrijk is geweest.

Samenvattend kan worden gezegd, dat tenminste 5 herhalingen, bij voorkeur met thiovit, nodig zijn om een redelijke vermindering van aantasting te krijgen. Nu in ons land aandacht wordt besteed aan een uitbreiding van de hazelnootteelt (BEYERINCK, 1951) wordt het de vraag, of een dergelijk intensief bespuitings-schema rendabel zal zijn. De praktijk zal dit moeten uitmaken. Hoewel het uit-snoeien van rondknoptakken een aantasting in een van het begin af goed onderhouden aanplant binnen bescheiden grenzen houdt, zal deze methode bij een sterkere besmetting, wel eens niet meer afdoende kunnen zijn. Een combinatie van snoei- en bespuiting ligt dan voor de hand.

SUMMARY

In 1951, experiments were carried out on the control of *Eriophyes gracilis*, the mite that causes yellow leaf spots on raspberry and *Eriophyes avellanae*, the hazel-nut gall mite. The control methods developed were based on differences in the biology of the two species.

Biology of *E. gracilis*. It was found that the mites hibernate in the narrow space between the leaf petiole and the axillary bud, and also between the outer bud scales. About the second half of April, they become activated by the rise in temperature and in the beginning of May move to the leaves and other parts of the raspberry bush. After some weeks the young leaves of the new shoots also become infested. Reproduction of the mites is fairly rapid. By the end of August numbers of from 100 to 200 mites per leaf are common. Early in September a mass migration starts and continues until late in the autumn (for more detailed information see (VAN DINTHER, 1951).

Biology of *E. avellanae*. All mites hibernate inside the deformed swollen buds, the so-called „big buds”, where they are well protected. About the second week in May, the first mites appear on the outside of the buds and in the middle of May migration starts. They swarm in all directions and can be found on all parts of the hazel, e.g. on the young leaves and the new bud shoots. Mites are soon found near the bases of the small, current season buds (about $1\frac{1}{25}$ inch long). By about May 23 numbers of mites, varying from 1–7, have already penetrated the new buds. By the beginning of August many mite-infested buds may be distinguished, but there is no correlation between the numbers of mites inside a bud and the size of the bud. At this time maximum numbers of 60–70 mites per bud can be counted. By the middle of September the „big buds” are plainly visible and some hundreds of mites are present in them. Reproduction continues until late autumn, when a thousand or more mites can be found in some buds. After hibernation, reproduction starts again at the beginning of April and mites, probably of a new generation, start migrating in the middle of May.

Control.

A. Winter-spray

5 % and 7 % tar-oil spray and 5 % mineral oil (W.E. 103), applied at the beginning of March, before bursting of the buds, kill 50 % of the hibernating raspberry mites. These sprays are of no avail against the nut gall mite, which passes the winter well protected inside the „big buds”.

B. Summer-spray

0,75 % wettable sulphur (Thiovit), applied at the beginning of May, gives a good result against the raspberry mite (see Table 1). 0,2 % parathion is much less effective. Earlier investigations (VAN DINTHER, 1951) have shown that the mite does not cause serious injury to raspberries, but it is not impossible that it may act as a virus-vector, as MASSEE has shown for *Eriophyes ribis* NAL.

The following insecticides have been tested against the nut gall mite, *E. avellanae*: 0,05 % parathion (Folidol E 605, concentrated), 2 % wettable sulphur (Thiovit) and 2 % lime sulphur. A scheme of 3 or 5 treatments during spring was followed. The first spray was applied on May 16 and the last on June 20. By the end of June all filbert shrubs were inspected and the results are shown in Table 2. Parathion proved of little value; 3 treatments of lime sulphur or wettable sulphur gave a better mite reduction. 5 treatments with Thiovit gave an especially good result.

Good control can be obtained only if penetration of the mites into the young buds is prevented. As mite migration starts about the middle of May and continues till the end of June, it is obvious that several spray treatments (preferably at least 5) are necessary in order to obtain good results. Thiovit has a residual effect lasting about 7 days, depending on climatic conditions. In practice a combination of pruning and spraying is recommended.

LITERATUUR

- BEYERINCK, W.,—1951. Hazelnotenteeft (Filbert culture). Med. Dir. v.d. Tuinbouw 14: 513–522.
DINTHER, J. B. M. VAN, — 1951. *Eriophyes gracilis* Nal., als verwekker van gele bladvlekken op framboos. (*Eriophyes gracilis* Nal. and yellow leaf spots on raspberry). T. Pl.ziekten, 57 : 81–94. *L. O. 2. 1. 0*

EEN NIEUWE METHODE VOOR DE BEPALING VAN DE VATBAARHEID VAN ROGGEPLANTEN VOOR AANTASTING DOOR STENGELAALTJES (*Ditylenchus dipsaci* (KÜHN) FILIPJEV) ¹⁾

DOOR

Dr J. W. SEINHORST

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek (I.P.O.), Wageningen

Symptomen van „reup” (aaltjesziekte) kunnen opgewekt worden bij roggeplanten van verschillende ouderdom door aaltjes tussen de bladscheden aan de voet van de planten te brengen (SEINHORST, 1945). Tevens vindt men in rassen, die te velde in belangrijke mate resistent blijken te zijn een aantal planten, die ook na herhaaldelijk op bovengenoemde wijze geïnoculeerd te zijn geen symptomen van aaltjesaantasting gaan vertonen. Hiermee is dus de mogelijkheid gegeven om de vatbaarheid van roggeplanten voor aantasting door stengel-aaltjes te onderzoeken en met behulp van dit onderzoek het kweken van een resistent ras te beproeven.

Aanvankelijk werden de te onderzoeken planten te kiemen gelegd in kistjes

¹⁾ Ontvangen voor publicatie, Mei 1952.

met grond. Zodra de kiemplanten ongeveer 3 cm lang waren werden de aaltjes er met een platte naald ingebracht.

Aan deze methode bleken echter verschillende bezwaren te kleven, zodra ze voor seriewerk werd toegepast, waarbij toch een grote mate van zekerheid werd geëist. Het percentage geslaagde inoculaties bleef te klein, de beoordeling der planten was, vooral als deze wat ouder waren, te moeilijk en het was niet mogelijk de gegevens van elke plant afzonderlijk te administreren, daar hiervoor elke plant van een etiket voorzien moest worden, wat vrijwel onuitvoerbaar bleek te zijn. Een nieuwe methode, die aan al deze bezwaren tegemoet kon komen, sneller werken mogelijk maakte en minder plaatsruimte vergde, werd daarom ontworpen. De methode, die door BINGEFORS (1950) toegepast werd voor het onderzoek naar de vatbaarheid van rode klaver voor aantasting door stengelaaltjes en waarbij de plantjes op filtreerpapier gekweekt worden, was de aanleiding tot het ontwerpen van de hieronder beschreven methode.

HET TE KIEMEN LEGGEN EN OPKWEKEN DER ROGGEPLANTEN

In plaats van in grond worden de roggekorrels te kiemen gelegd in stroken filtreerpapier van $8 \times 16 \text{ cm}^2$ en ruim 2 mm dik. Een grotere dikte is misschien beter, maar zulk materiaal was in Nederland niet te krijgen. Op deze stroken worden twintig evenwijdige lijntjes op een afstand van 8 mm van elkaar, genummerd 1 tot 20 en op 2 cm van de rand van het papier verbonden door een lijn, gestempeld (zie fig. 2). De afstand der lijntjes is vrij willekeurig. Men kan ze ook wijder van elkaar plaatsen. Met een beitel van $\pm 1,5 \text{ cm}$ breedte worden op de plaats der evenwijdige lijntjes sneden gemaakt tussen 0,5 en 2 cm van de bovenrand van het papier. Wanneer de beitel zeer scherp is en het schuine deel ervan lang genoeg, kunnen vijf tot zeven papierstroken tegelijk doorgestoken worden. Voor het leggen van de korrels wordt nu een strook met de cijfers naar beneden en de bovenrand naar rechts gelegd en met een fijn straaltje water op de plaats van de sneetjes bevochtigd. De korrels worden opgepakt met een pincet met platte punten, waarin aan de binnenkant in de lengterichting gleuven gevild zijn. Hierdoor kunnen de korrels stevig vastgepakt worden. Ze worden zo in de pincet genomen, dat de gleuf in de korrel aan de bovenzijde komt en de scherpe punt naar links buiten de pincet wijst (fig. 1). Door het bevochtigen is het papier wat zachter geworden, zodat de korrel er gemakkelijk ingeschoven kan worden. Is deze op de juiste wijze in het papier gebracht dan steekt alleen de spitse punt iets uit (fig. 2). De kiem ligt aan de bedrukte zijde van het papier. Bij het kiemen groeien de worteltjes naar beneden en het coleoptiel naar boven, evenwijdig aan het papier, wanneer dit verticaal geplaatst wordt. Aan de bedrukte zijde wordt nu een tweede stuk dik of een aantal velletjes dun filtreerpapier tegen de strook papier met de korrels gelegd. Het geheel wordt gedompeld in een voedingsoplossing volgens KNOPP, die 0,5 g Aretan per l bevat, om schimmelgroei op het papier te voorkomen. Ook door een oplossing, die 1 gram Aretan per liter bevatte, bleken de roggeplanten nog niet beschadigd te worden als tenminste het zaad zelf niet reeds ontsmet was met een droogontsmetter. Echter ook met geringere concentraties werd schimmelgroei in de regel afdoende bestreden.

De bevochtigde papierstrook wordt in een metalen houder gelegd en rechtop in een bakje met waterdichte bodem gezet. Aluminium van 0,3 mm dikte bleek



FIG. 1. Het insteken van de korrels in een papierstrook.
Putting the grains in a filter paper pad.

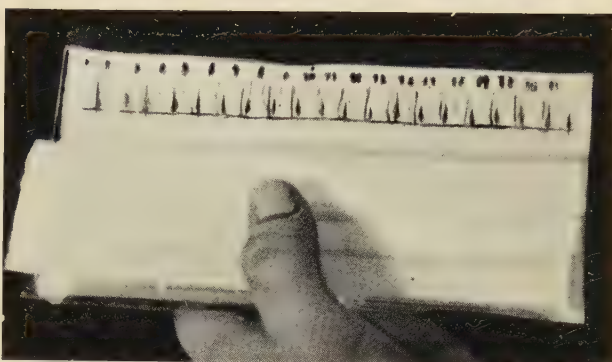


FIG. 2. Papierstrook met korrels in aluminium houder.
Filter paper pad with grains in aluminium holder.

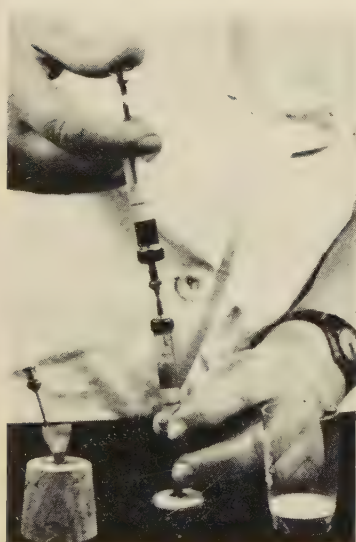


FIG. 3. Het vullen van de injectiespuit met de aaltjessuspensie.
Filling the hypodermic syringe with the eelworm suspension.

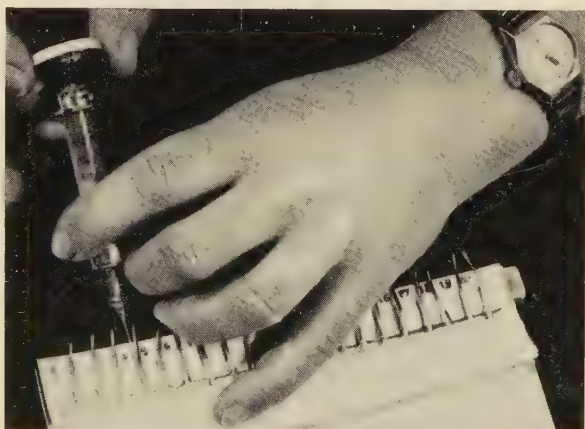


FIG. 4. Inoculatie van rogge kiemplanten.
Inoculation of rye seedlings.

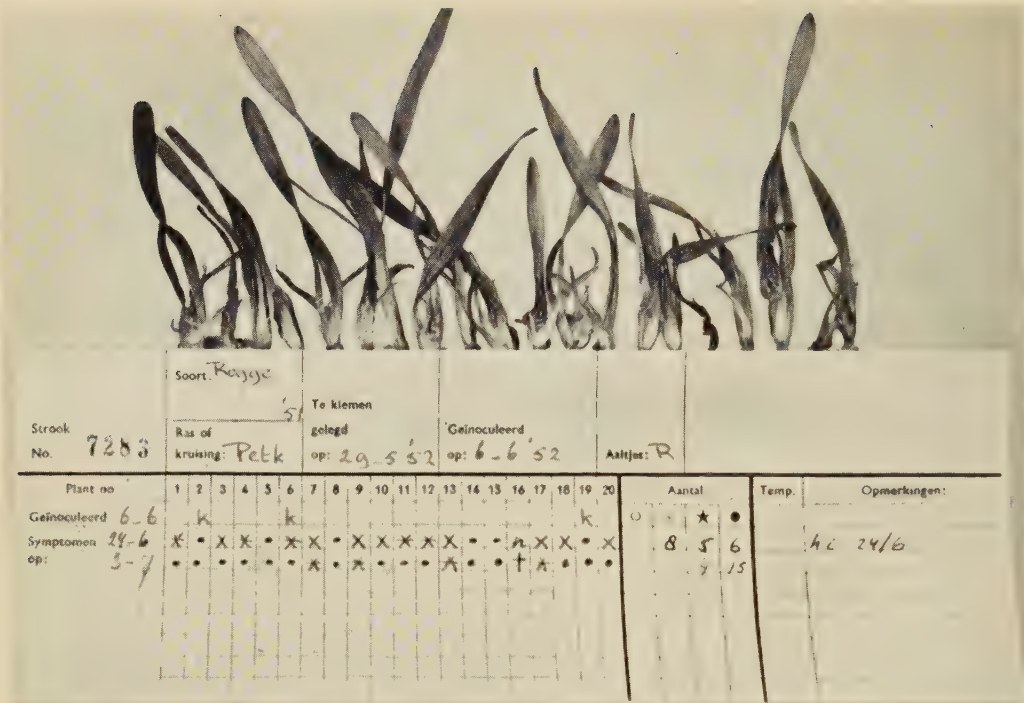


FIG. 5. Petkuser planten 4 weken na inoculatie en bijbehorend aantekenformulier. o = geen symptomen; x = verdacht; ★ = duidelijke symptomen; • = hevig aangetast.

Seedlings of the variety Petkus 4 weeks after inoculation and form with notes on sowing, inoculation and degree of attack of these plants.

o = no symptoms; x = suspected plants; ★ = distinct symptoms; • = heavily attacked.



FIG. 6. Rogge kiemplanten drie weken na inoculatie met carboxymethylcellulose-oplossing zonder aaltjes.

Rye seedlings three weeks after inoculation with carboxymethylcellulose solution, but without eelworms.

heel geschikt te zijn voor het maken van deze houders. Zink kan ook gebruikt worden, maar het moet goed gelakt worden, daar anders beschadiging van de planten niet uitgesloten is. Op deze wijze konden gemakkelijk 40 rekjes met tezamen 800 planten in een bakje van 18×50 cm geplaatst worden, terwijl dit kistje slechts 100 planten kon bevatten, wanneer het gevuld was met grond. Water wordt gegeven door geregeld een kleine hoeveelheid in de bakken te gieten, waaraan een spoortje Fe Cl_3 is toegevoegd om geel worden van de planten te voorkomen. De planten konden dan gemakkelijk anderhalve maand op de papierstroken aan de groei gehouden worden.

HET AALTJESMATERIAAL

De aaltjes worden verkregen uit aangetaste rogge, die op besmette velden verzameld wordt of uit bieten, die geïnoculeerd worden met stengelaaltjes uit rogge. Reupzieke rogge kan al gevonden worden vanaf begin November. Deze bleek echter niet geschikt te zijn voor het leveren van aaltjes. Gedurende de gehele winter tot begin Mei werden in deze planten wel vrij veel aaltjes gevonden, maar dit waren steeds grotendeels volwassen exemplaren. Het bleek, dat deze niet met de trechtermethode of het sproeiapparaat (SEINHORST, 1950) uit de planten afgescheiden konden worden, ook niet nadat ze gedroogd waren. In de grond komen deze aaltjes wel vrij, wat bleek uit de zeer grote aantallen ♂♂ en ♀♀ (± 1 per g grond), die begin Mei in de bouwvoor werden gevonden op een reupplek, maar de zwaar aangetaste planten rotten daar ook snel geheel weg. Eind April kwamen in te velde verzamelde planten grote aantallen eieren voor en midden Mei, wanneer de rogge gaat doorschieten, werden steeds grote aantallen larven gevonden, die wel met het sproeiapparaat afgescheiden en verzameld konden worden. Vanaf midden Mei tot eind Juni (begin van afrijpen van de rogge) kon geschikt materiaal verzameld worden. Dit werd steeds voorzichtig gedroogd en daarna gehakseld. Het kon dan vrij goed bewaard worden. Dadelijk na het hakselen werd begonnen met het afscheiden van de aaltjes, die gereinigd, gedroogd en koel bewaard werden. Dit bleek een groter rendement te geven, dan extractie van het bewaarde gedroogde materiaal, wanneer de aaltjes nodig waren. Vermoedelijk blijft het stro niet droog genoeg om de aaltjes lang in leven te houden en is ook de temperatuur wat te hoog voor een goede bewaring. Uit dezelfde gewichtshoeveelheid gedroogde aangetaste rogge bleken vlak na het verzamelen vaak 5 tot 10 maal zoveel aaltjes te voorschijn te komen als een jaar later, terwijl koud bewaarde aaltjes in die tijd weinig van hun vitaliteit verloren bleken te hebben.

Het verzamelen van aangetaste rogge is echter vrij kostbaar en daarom werd gezocht naar een methode om de aaltjes te kweken. Dit bleek goed mogelijk te zijn in voederbieten. Per biet worden ongeveer 20 inoculaties gegeven door een aaltjessuspensie in carboxymethylcellulose met een injectiespuit (zie beneden) in gaatjes van 2 mm doorsnede en 5 mm diepte te brengen. De gaatjes worden afgesloten met paraffine. Na 6–8 maanden is de biet door en door aangetast en bevat zeer grote aantallen aaltjes.

DE INOCULATIE

Aan de oude inoculatiemethode, waarbij met een platte naald eerst een sneetje in de plant werd gemaakt en daarna met dezelfde naald de aaltjes in dit sneetje

gebracht werden, bleken een aantal bezwaren te kleven. In de eerste plaats werkte deze methode vrij langzaam en in de tweede plaats was het niet altijd gemakkelijk de aaltjes goed in de planten te brengen. Daarom werd een methode ontwikkeld, waarbij met een injectiespuit de aaltjes op de gewenste plaats in de roggeplanten gebracht konden worden. Dit is zeer moeilijk, wanneer de aaltjes in water gensspendeerd zijn. Ze bezinken en verstopen de naalden. Carboxymethylcellulose tot de juiste concentratie in water opgelost (nog juist vloeibaar) bleek een zeer geschikt materiaal te zijn om er de aaltjes in te suspenderen. Het is in poedervorm verkrijgbaar en kan gemakkelijk in water opgelost worden. Voor het mengen van de aaltjes met de carboxymethylcellulose wordt een trechtervormig uitgetrokken buisje van $\pm 1\frac{1}{2}$ cm³ inhoud gebruikt dat in een kurk gestoken wordt om het rechtop te houden (zie fig. 3).

De aaltjes, die te voren opgeweekt, goed levendig en vrij van grof vuil of draadjes moeten zijn, omdat anders de injectienaalden verstopt raken, worden op een fijn glasfilter (bv. Schott. G 3) drooggezogen. In het buisje wordt daarna aan $\pm 0,7$ cm³ carboxymethylcellulose-oplossing $\pm 0,3$ cm³ drooggezogen aaltjes toegevoegd. Dit komt neer op ± 150.000 aaltjes per cm³. Aaltjes en carboxymethylcellulose worden zo goed mogelijk gemengd; de suspensie wordt met een druppel methyleenblauw of gentiaanviolet gekleurd en dan door een wijde naald (1 mm) in een injectiespuit (van 1 cm³) gezogen. Door het trechtervormige bakje kan gemakkelijk de laatste druppel nog opgezogen worden.

Bij de inoculatie mag geen lucht in de spuit aanwezig zijn, daar deze bij het indrukken van de zuiger samengeperst zou worden, wanneer de punt van de naald in de plant steekt en de suspensie naar buiten zou persen, wanneer de naald uit de plant getrokken wordt. De volgende bewerking is nodig om een injectiespuit met suspensie te vullen zonder lucht in te sluiten: Op de gevulde spuit wordt een naald no 14 gezet. Een tweede spuit wordt met uitgetrokken zuiger met de opening naar boven gezet. De naald van de eerste spuit wordt hierdoor naar binnen gestoken en de suspensie wordt voorzichtig uitgeperst terwijl zo gemaneuvreerd wordt, dat niet opnieuw lucht ingesloten wordt (zie fig. 3).

Voor het inoculeren worden zeer nauwe naalden (no 18) gebruikt. De naalden moeten zeer scherp zijn, daar botte op de taaie planten afglijden en bij het insteken ernstiger beschadigingen teweegbrengen dan scherpe.

Bij het inoculeren wordt de naald evenwijdig aan de kiemplant gehouden met de punt in de richting van de worteltjes wijzend en 0,5 cm boven de worteltjes in het hypocotiel gestoken (fig. 4). De naald moet daarbij zo gedraaid worden, dat, wanneer deze boven de plant is, de opening naar links of naar rechts wijst. Op deze wijze wordt een snede evenwijdig aan de nerven gemaakt, terwijl bij een andere stand van de naald veel meer nerven doorgesneden worden, wat een ernstige beschadiging van de plant betekent.

De punt van de naald wordt tot onder in de plant gedrukt, daarna wordt een druppeltje aaltjessuspensie uitgeperst en de naald wordt teruggetrokken. Doordat de suspensie gekleurd is, kan men deze in de plant waarnemen en zo controleren of er werkelijk wat ingekomen is. De dosering is met een gewone injectiespuit vrij moeilijk. De druk, die men op de zuiger moet uitoefenen, varieert van plant tot plant vrij sterk. Daarom werd overgegaan tot het gebruik van spuiten, waarbij de zuigerstang van schroefdraad is voorzien. Deze loopt in een moer, die aan de dop van de spuit bevestigd is. Door de stang te draaien

wordt deze tevens in de lengterichting verplaatst. Draait men steeds over dezelfde hoek, dan wordt ook dezelfde hoeveelheid suspensie in de plant geperst.

Dit soort injectiespuiten is in de handel, maar kan ook gemakkelijk gemaakt worden. Bij normale spuiten kunnen de zuigerstangen steeds van de zuigers losgeschroefd worden. Neemt men een boutje met moer van geschikte lengte en dikte, dan kan de moer op de dop van de spuit gesoldeerd worden, terwijl de kop van de bout door een wat grotere schijf vervangen kan worden.

Bij het gebruik van een injectiespuit met schroef, wordt de houder met de papierstrook op tafel gelegd en zo gesteund, dat ze niet weg kan glijden bij het inoculeren. De spuit wordt in de linkerhand genomen en met de rechterhand wordt de zuiger gedraaid.

TIJDSTIP VAN INOCULATIE

Voor het verkrijgen van duidelijke symptomen is het van belang de planten niet te jong te inoculeren. Om uit te maken, wat het beste tijdstip voor de inoculatie is, werden planten van verschillende ouderdom geïnoculeerd. De planten, die twee dagen na het te kiemen leggen geïnoculeerd werden en toen ± 1 cm lang waren, vertoonden ongeveer 2 weken na de inoculatie zware beschadiging, die bij resistente planten moeilijk te onderscheiden was van symptomen van aantasting. Deze moeilijkheden traden niet meer op wanneer planten van 4 dagen of ouder (2 cm lang of langer) geïnoculeerd werden.

TEMPERATUUR

Ontstaan van symptomen na inoculatie van vatbare roggeplanten bleek mogelijk te zijn tussen 5 °C en 20 °C. Ze ontstonden sneller, naarmate de temperatuur hoger was. Aan het werken bij hogere temperaturen zijn echter verschillende bezwaren verbonden. In de eerste plaats groeien bacteriën en schimmels sneller bij hogere temperaturen, waardoor het moeilijker wordt de planten de gewenste tijd op het papier te kweken. Verder verdragen ook de roggeplanten hogere temperaturen minder goed. Ze worden lang, slap en wat chlorotisch. Het grootste bezwaar is echter, dat vatbare en onvatbare planten bij hogere temperatuur minder goed zijn te onderscheiden. Bij de vatbare planten zijn dan namelijk de symptomen vaak minder sprekend, vooral als de planten ouder worden en bij de onvatbare planten zijn op symptomen van aantasting gelijkende beschadigingen storender dan bij lagere temperaturen.

Goede resultaten werden verkregen door de planten overdag bij 15–17 °C te plaatsen en ze 's nachts in een koelcel te zetten bij 3 °C. Constant 15 °C–17 °C bleek soms minder goede resultaten te geven, maar waarschijnlijk zal constant 10 °C wel bruikbaar zijn. Aangezien het vatbaarheidsonderzoek gedurende enkele maanden in het voorjaar uitgevoerd moet kunnen worden, is het dus zeer gewenst bij dit onderzoek over een gekoelde ruimte met verlichting te beschikken. In de hoeveelheid licht, die de planten bij 10–15 °C nodig hebben kan gemakkelijk met buislampen voorzien worden.

Aantekeningen omtrent de reactie van elke plant afzonderlijk worden evenals de gegevens over ras of kruising, en dat van te kiemen leggen en inoculatie gemaakt op een hiervoor ontworpen formulier (zie fig. 5).

De auteur wil hier zijn dank uitspreken aan Mej. A. E. E. van Ees en Mej.

E. H. LASONDER voor hun assistentie bij het onderzoek van een groot aantal planten volgens de bovenbeschreven methoden.

SUMMARY

A new method for testing the susceptibility of rye plants to attack by the stem eelworm Ditylenchus dipsaci (KÜHN) FILIPJEV

When large numbers of rye seedlings were grown in boxes of soil and inoculated with stem eelworms by means of a flat needle, to test their susceptibility to eelworm attack, the method proved unsatisfactory. Better results were achieved by a method described in the foregoing article in which rye seedlings were grown on thick filter paper pads; the grains being inserted into slits cut in the pad by means of a chisel (fig. 1). Each pad is covered with some sheets of thin filter paper on the side where the seedlings appear and the whole is dipped in Knopp's plant culture solution made up in 0.05 per cent. Aretan as a protection against the growth of bacteria and fungi. It is then put into an aluminium holder and placed vertically in a box with other pads which are watered daily or every second day. A trace of ferric chloride (FeCl_3) is added to the water in order to prevent chlorosis of the seedlings which otherwise become evident about two weeks after planting. By numbering the pads and the slits in each, data can be obtained concerning each individual plant without risk of confusion (fig. 5).

Infested rye, oats and mangolds served as a source of supply of stem eelworms; rye plants collected in the field in May and June contained large numbers of the infective, fourth stage larvae. Since a suspension of eelworms in water was found to clog the needle, suspensions of infective larvae in a solution of carboxymethylcellulose were made and this was inoculated into seedlings by means of a syringe using a No. 18 hypodermic needle (fig. 3, 4). Seedlings are inoculated when they are about 2 cm long; smaller ones are damaged too much and this obscures symptoms or causes resistant plants to appear as though attacked. Low temperatures ($10\text{--}15^\circ\text{C}$) prove favourable for the manifestation of symptoms.

LITERATUUR

- BINGEFORS, S. — 1950. Undersökningar över klövernematodens utbredning och förutsättningar för resistens förädling av rödklöver i mellersta och norra Sverige. Sveriges Utsäde-förenings Tidskrift 2 en 3.
- SEINHORST, J. W. — 1945. Een laboratoriummethode voor de bepaling van de vatbaarheid van rogge voor aantasting door het stengelaaltje (*Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev). T. Pl.ziekten 51: 39–52.
- — 1950. De betekenis van de toestand van de grond voor het optreden van aantasting door het stengelaaltje, *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev. T. Pl.ziekten 56: 289–349.

NATUURLIJK HERSTEL VAN LOODGLANSZIEKTE ¹⁾

With a summary: Natural recovery from silver-leaf disease

DOOR

Dr J. GROSJEAN

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

De onderzoeker, die bestrijdingsmethoden tegen loodglansziekte beproeft, staat ieder jaar weer voor de moeilijkheid te moeten beoordelen of verbeteringen, die hij waarneemt in de toestand van zijn proefobjecten, mogen worden beschouwd als het gevolg van de behandelingen die hij toepaste, of wel dat zij zonder die behandelingen ook hadden kunnen optreden. Want het verloop van deze ziekte is dikwijls grillig; soms ziet men een boom of struik na infectie met *Stereum purpureum* in enkele jaren volkomen afsterven, soms blijft hij jarenlang de verschijnselen van matige aantasting vertonen zonder dat er verandering van betekenis aan valt op te merken, en soms ook blijkt de toestand weer te zijn verbeterd, vergeleken bij het voorafgaande jaar. Dergelijke verbeteringen kunnen tijdelijk of blijvend zijn, zij kunnen in latere jaren weer door achteruitgang worden gevolgd, maar kunnen soms ook leiden tot volkomen herstel. Reeds BROOKS en medewerkers hebben herhaaldelijk de aandacht gevestigd op de mogelijkheid van genezing van de loodglansziekte (BROOKS en STOREY, 1923, BROOKS en MOORE, 1926, BROOKS en BRENCHLEY, 1931 en 1935). De kans op genezing is sterk afhankelijk van de soort van waardplant; wij hebben in de afgelopen jaren de ervaring opgedaan, dat loodglansziekte bij appelbomen in verreweg de meeste gevallen weer geneest zonder dat hiertoe bijzondere maatregelen behoeven te worden genomen. Bij pruimen is het herstelvermogen afhankelijk van het ras; het is b.v. groot bij Ontario en Reine Claude d'Althann, veel kleiner bij Victoria en Early Laxton. In een vorige publicatie werd reeds mededeling gedaan over de kans op herstel bij verschillende pruimenrassen, naar aanleiding van waarnemingen in de Betuwe (GROSJEAN, 1949). Hierbij was echter het oog uitsluitend gevestigd op de kans op totaal en blijvend herstel; de gevallen van verbetering, waarbij geen volkomen herstel werd bereikt, werden buiten beschouwing gelaten, daar zij voor de praktijk weinig betekenis hebben. Doch voor de onderzoeker staat de zaak geheel anders. In de eerste plaats vraagt hij zich natuurlijk voortdurend af wat toch de oorzaak mag zijn van dergelijke verbeteringen, onder welke omstandigheden zij optreden en hoe eventueel dit optreden zou zijn te bevorderen. Verder zou hij bij zijn proeven steeds een groot aantal zieke bomen, die in alle opzichten vergelijkbaar zijn met zijn proefbomen, onbehandeld moeten laten teneinde later vergelijkingen te kunnen maken.

Ondanks het zeer veelvuldig optreden van de loodglansziekte blijkt het echter, dat slechts hoogst zelden op één bedrijf een zo groot aantal bomen van hetzelfde ras, dezelfde leeftijd en ongeveer even sterke graad van aantasting zijn te vinden, dat men zijn proeven in voldoende aantal kan nemen en daarnaast nog een minstens even groot aantal overhoudt, dat als contrôle kan dienen. Hoe onbehandelde bomen zich zouden gedragen moeten wij dus langs andere weg trachten te weten te komen en hiertoe verschaft jaarlijkse inventarisatie van de loodglansziekte in een aantal pruimenboomgaarden in de Betuwe ons de gelegenheid. De

¹⁾ Ontvangen voor publicatie, Mei 1952.

boven reeds genoemde studie over het verloop van de loodglansziekte bij verschillende pruimenrassen was gebaseerd op de resultaten van deze inventarisatie gedurende de jaren 1941 tot en met 1946. De waarnemingen zijn sindsdien geregeld voortgezet, en het is nu mogelijk om voor een bepaald ras voor een reeks van jaren na te gaan in hoeverre jaarlijks veranderingen in de toestand van aange-taste bomen zijn voorgekomen, zowel vooruitgang als achteruitgang.

Het belang van deze jaarlijkse inventarisatie gaat echter veel verder dan alleen, dat zij vergelijkingsmateriaal voor bestrijdingsproeven opleverde, want zij ver-schafte ook gegevens over de hevigheid van optreden van de loodglansziekte in het algemeen in de verschillende jaren. Deze bleek aan sterke schommelingen onderhevig te zijn; jaren waarin de ziekte hevig optrad en zeer vele, voorheen nog gezonde, bomen aantastte wisselden af met jaren waarin de zieke bomen soms met moeite waren te vinden en uitbreiding van de ziekte nauwelijks voor-kwam. Het ligt voor de hand de oorzaak hiervan te zoeken in weersomstandig-heden. Het is nu inderdaad mogelijk gebleken verband te leggen tussen weers-omstandigheden en de mate van optreden van de loodglansziekte in de ver-schillende jaren. Hierdoor is het tevens mogelijk geworden een antwoord te geven op de vraag onder welke omstandigheden spontaan herstel van de lood-glansziekte plaats heeft. Indien wij ons niet zeer bedriegen is hierdoor zelfs de oplossing van het vraagstuk, hoe dit herstel zou zijn te bevorderen, aanzienlijk naderbij gekomen.

MATERIAAL EN METHODE

Het onderzoekingsmateriaal bestond uit verschillende pruimenrassen; hier-onder was het ras Victoria het meest vertegenwoordigd. Met dit ras worden ook de bestrijdingsproeven in hoofdzaak uitgevoerd en daarom zijn de volgende be-rekeningen gebaseerd op waarnemingen bij Victoria gedaan. In 1944 waren in totaal 911 bomen van dit ras in observatie (816 struikvormen, aangeplant in de jaren tussen 1931 en 1937, en 95 hoogstammen, omstreeks 1922 aangeplant); 220 hiervan vertoonden in dat jaar verschijnselen van loodglansziekte. Ieder jaar werden een aantal van deze bomen gerooid, zowel wegens loodglansziekte als om andere redenen, zodat in 1950 het totale aantal in observatie zijnde bomen was geslonken tot 523, waarvan 143 ziek waren.

Jaarlijks werd voor iedere boom, die tekenen van loodglansziekte vertoonde, de mate van aantasting vastgesteld, uitgedrukt in één der getallen van 1 tot 5, die de volgende betekenis hadden:

- | | |
|------------------------------------|--|
| 1. minder dan $\frac{1}{4}$ | van de kroon aangetast, symptomen zwak |
| 2. „ „ $\frac{1}{4}$ | „ „ „ „ „ „ normaal |
| 3. $\frac{1}{4}$ tot $\frac{3}{4}$ | „ „ „ „ „ „ „ |
| 4. meer dan $\frac{3}{4}$ | „ „ „ „ „ „ „ |
| 5. „ „ $\frac{3}{4}$ | „ „ „ „ „ „ sterk |

Onder normale symptomen werden verstaan duidelijk zichtbare bladver-keuringen; trad hiernaast het verschijnsel van afstervende takken op, dan wen-den zij sterk genoemd. Dit werd vrijwel uitsluitend gevonden bij bomen waarvan een zeer groot gedeelte (meer dan $\frac{3}{4}$) van de kroon was aangetast. Soms echter waren de bladverkeuringen zeer zwak, zodat zij eerst na nauwkeurige beschou-wing werden opgemerkt; in dat geval was er sprake van zwakke symptomen. Gewoonlijk werden dergelijke zwakke symptomen alleen aangetroffen bij

bomen, waarvan slechts een klein gedeelte van de kroon was aangetast. In twee jaren ging dit echter niet op, nl. in 1945 en 1947. In deze beide jaren kwamen de loodglansverschijnselen over het algemeen slechts zeer zwak te voorschijn; vooral in 1947 maakten veel bomen, die het voorafgaande jaar nog duidelijk ziek waren, bij vluchtige beschouwing de indruk genezen te zijn. Bij nauwkeuriger en langduriger onderzoek waren echter meestal de symptomen nog wel te ontdekken. De inventarisatie werd hierdoor zeer bemoeilijkt; ten eerste was de gebruikte schaal voor de mate van aantasting eigenlijk niet toereikend om de algemene zwakte van de symptomen goed uit te drukken, daar thans ook zwakke symptomen voorkwamen bij grotere uitbreiding van de aantasting over de kroon. Bovendien was er niet voldoende tijd beschikbaar om iedere boom aan een zo minutieus onderzoek te onderwerpen als toen nodig zou zijn geweest. Vooral in 1945, toen door buitengewone omstandigheden de inventarisatie in zeer korte tijd moest geschieden, veroorzaakte dit moeilijkheden; in dat jaar werden dan ook alleen de gevallen van achteruitgang opgenomen, en de nieuwe ziektegevallen, voor zover deze duidelijk te herkennen waren.

In de overige jaren voldeed deze methode van registratie zeer goed en met behulp van al deze waarnemingen is nu voor elk van de jaren van 1944 tot en met 1950 berekend bij hoeveel % van de bomen van het ras Victoria, die het voorafgaande jaar aan loodglansziekte leden, in het betreffende jaar de toestand was achteruitgegaan, onveranderd gebleven, of vooruitgegaan. Deze getallen zijn in tabel 1 samengevat. Daar bij geen dezer bomen bijzondere maatregelen waren genomen om het herstel te bevorderen mogen wij aannemen dat hieruit een betrouwbare indruk wordt verkregen omtrent het te verwachten verloop van de ziekte bij onbehandelde bomen.

TABEL 1. Aantal zieke bomen, waarbij de toestand is achteruitgegaan, onveranderd is gebleven of vooruit is gegaan, in % van het aantal zieke bomen.

Number of diseased trees declined, unchanged or recovered; % of number of diseased trees.

Jaar (Year)	1944	1945	1946	1947	1948	1949	1950
Achteruitgegaan . . (Declined)	31	16	33	10	20	16	19
Onveranderd (Unchanged)	44	—	46	47	59	49	52
Vooruitgegaan . . . (Recovered)	25	—	21	43	21	35	29

Tevens is voor ieder jaar nagegaan bij welk percentage van de bomen, die het voorafgaande jaar nog gezond waren, verschijnselen van loodglansziekte werden geconstateerd; deze percentages zijn vermeld in tabel 2.

TABEL 2. Aantal nieuwe ziektegevallen, in % van het aantal in voorafgaand jaar nog gezonde bomen.

Number of newly diseased trees; % of number of trees sound in preceeding year.

Jaar (Year)	1944	1945	1946	1947	1948	1949	1950
Nieuwe gevallen . . . <i>Newly diseased</i>	7,8	1,8	11,8	1,4	5,0	6,4	13,4

De mogelijkheid bestaat, dat in andere delen van ons land de resultaten anders zouden zijn geweest; sinds korte tijd is daarom in Zeeland een dergelijke inventarisatie ter hand genomen.

HET ZIEKTEVERLOOP BIJ ONBEHANDELDE BOMEN VERGELEKEN MET DE UITKOMSTEN VAN BESTRIJDINGSPROEVEN

Wanneer wij de gevonden getallen over het ziekteverloop bij onbehandelde bomen, vermeld in tabel 1, willen vergelijken met de resultaten van bestrijdingsproeven volgens de boorgatmethode, waarover vroeger mededeling werd gedaan (GROSJEAN, 1951), moet in aanmerking worden genomen, dat bij deze bestrijdingsproeven alleen een positief resultaat werd aangenomen indien *aanmerkelijke* verbeteringen in de toestand van de behandelde bomen waren te constateren. Vooruitgang van minstens 2 punten in de numerieke schaal kan worden geacht aan deze voorwaarde te voldoen. Bij bomen, die zich reeds in klasse I bevonden (die dus slechts zeer zwakke symptomen vertoonden) zou dit natuurlijk niet mogelijk zijn geweest; dergelijke bomen zijn bij de proeven dan ook nooit gebruikt. Om deze reden zijn de gevonden percentages natuurlijke vooruitgang nog als volgt gecorrigeerd: berekend is bij hoeveel % van de zieke bomen een vooruitgang van minstens 2 punten werd gevonden, indien de bomen van klasse I geheel buiten beschouwing werden gelaten. De aldus gevonden getallen zijn in tabel 3 aangegeven.

TABEL 3. % natuurlijke vooruitgang, vergelijkbaar met de resultaten van bestrijdingsproeven, in % van aantal zieke bomen.
% recovery to be compared with results of control experiments; % of number of diseased trees.

Jaar (Year)	1944	1945	1946	1947	1948	1949	1950
Vooruitgang (Recovery)	13	—	7	24	13	16	6

Vergelijkt men de aldus gevonden waarden voor de natuurlijke vooruitgang met de resultaten van de bestrijdingsproeven (zie genoemde publicatie, tabellen I en II), waarbij wij ons beperken tot die proeven, waarbij vast oxychinoline-sulfaat aan de bomen werd toegediend, dan blijkt het, dat hiermee inderdaad een percentage vooruitgang is bereikt dat behoorlijk boven het natuurlijk herstel uitkomt (bij de proeven met bomen in de volle grond 36 %, bij de proeven in kassen 80 %, gemiddeld 44 %). Bovendien is achteruitgang na de behandeling bij geen dezer bomen waargenomen, hetgeen op zichzelf reeds als een enigszins gunstig resultaat kan worden beschouwd. Het ideaal waar wij bij deze proeven naar streven: volkomen herstel bij een grote meerderheid der behandelde bomen, is echter nog niet bereikt.

VERBAND TUSSEN NATUURLIJK HERSTEL EN WEERSOMSTANDIGHEDEN

Zoals reeds werd medegedeeld traden in de jaren 1945 en 1947 de verschijnse-
len van de loodglansziekte buitengewoon zwak op; vooral in het laatstgenoemde
jaar waren de bladverkleuringen over het algemeen slechts met moeite te vinden.

Bij zeer nauwkeurige beschouwing werden zij dikwijls toch nog wel gevonden en bleken zich dan soms nog over een vrij groot gedeelte van de kroon uit te strekken. Bij de opstelling van de numerieke schaal voor de mate van aantasting was op dergelijke gevallen niet gerekend en dus moesten dergelijke bomen als „onveranderd sinds het vorige jaar” worden geregistreerd. Het verschijnsel komt daardoor in de getallen uit tabel 1 niet in volle omvang tot uiting; niettemin is 1947 het jaar met de meeste vooruitgang, de minste achteruitgang en het kleinste aantal nieuwe ziektegevallen. In 1945 kon door tijdgebrek de inventarisatie niet volledig plaats hebben, o.a. juist doordat de nauwkeurigheid waarmee de waarnemingen moesten geschieden het werk te tijdrovend maakte; het is echter buiten twijfel dat ook voor dit jaar zeer veel vooruitgang zou zijn gevonden, indien de inventarisatie behoorlijk had kunnen geschieden.

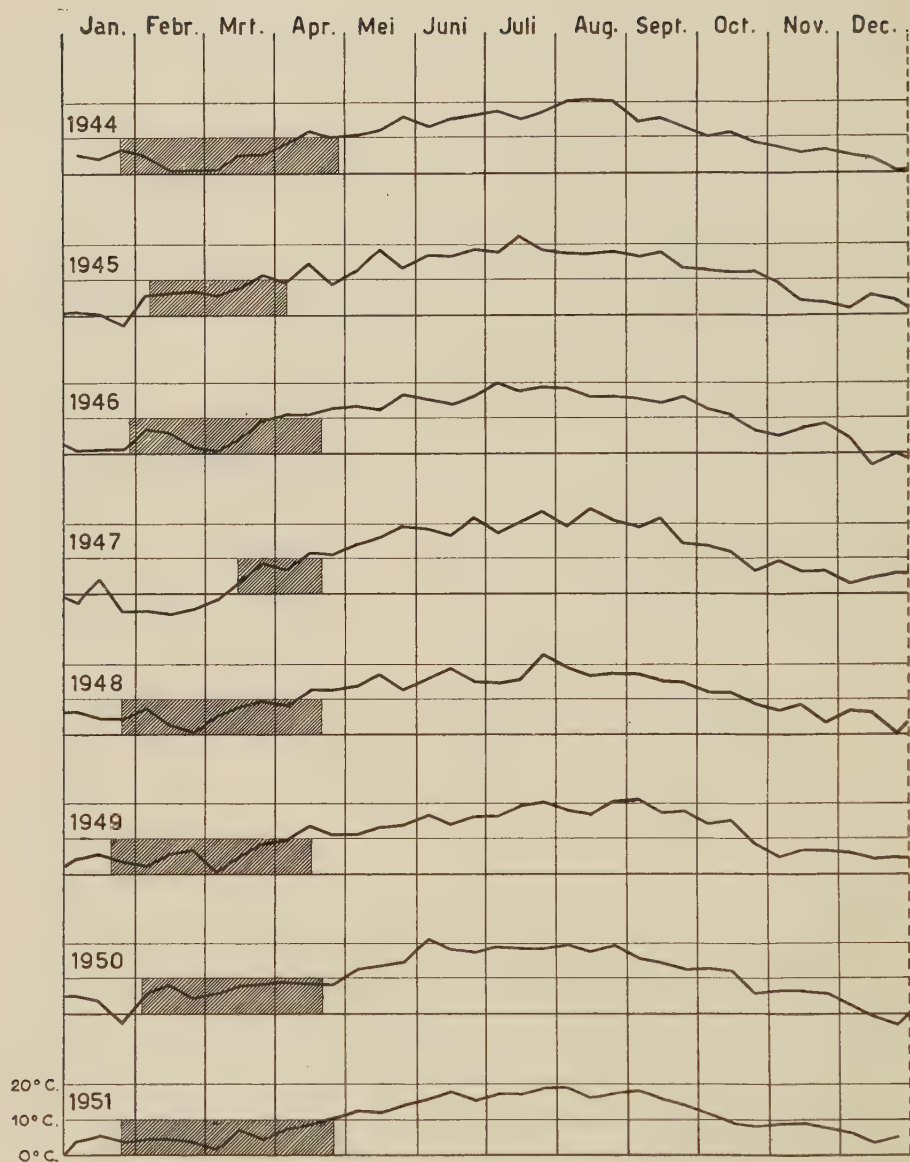
Dat in sommige jaren de loodglansziekte een belangrijk minder ernstig karakter heeft dan gewoonlijk werd ook door BROOKS en medewerkers reeds vermeld (BROOKS en STOREY, 1923; BROOKS en BRENCHELEY, 1931). Volgens deze auteurs zou dit verschijnsel optreden in jaren, volgende op een jaar met zeer hete, droge zomer. Dit komt in ons geval echter niet uit. De zomer van 1946 was nat en had temperaturen, die een weinig beneden de normale zomertemperatuur lagen; de zomer van 1944 was wel droog, doch de temperatuur was slechts weinig boven normaal. In tabel 4 zijn de hoeveelheid regen en de gemiddelde temperatuur voor de zomers van de jaren 1943 tot en met 1950 samengevat, vergeleken met de gemiddelde waarden, die hiervoor over de laatste 50 jaar werden gevonden, volgens mededelingen verstrekt door het K.N.M.I. te De Bilt.

TABEL 4. Hoeveelheid regen gedurende Juni, Juli en Augustus in % boven (+) of onder (–) normaal. Gemiddelde zomertemperatuur in °C boven (+) of onder (–) normaal.
Rainfall during June, July and August in % above (+) or below (–) normal. Mean temperature during summer in °C above (+) or below (–) normal.

Jaar (Year)	1943	1944	1945	1946	1947	1948	1949	1950
Regenval (Rainfall)	–1%	–17%	0%	+14%	–24%	+19%	–42%	+23%
Temperatuur (Temperature)	+0,°1	+0,°4	+0,°6	–0,°4	+2,°9	0,°0	+0,°3	+1,°5

Het jaar 1947, waarin de zomer wel abnormaal heet en droog was, werd niet gevolgd door een jaar met weinig loodglans. Men zou geneigd zijn in de abnormale weersomstandigheden gedurende de zomer van 1947 zelf de oorzaak te zoeken van de teruggang van de loodglansziekte in dat jaar, doch hiermee is het verschijnsel zeker niet volledig te verklaren, want reeds begin Mei 1947 was te zien dat de loodglanssymptomen over het algemeen zeer onduidelijk waren, dus nog vóór dat de zeer hoge zomertemperaturen waren opgetreden. Bovendien zou deze verklaring voor 1945 zeker niet opgaan, want toen was de hoeveelheid regen in de zomer normaal en de temperatuur slechts 0,°6 boven normaal.

Vragen wij ons af, waarin 1945 en 1947 zich dan wel onderscheiden van de overige jaren, dan kan fig. 1 hierop het antwoord geven. In deze figuur is het verloop van de gemiddelde temperatuur (landgemiddelde) voor de jaren 1944 tot en met 1951 weergegeven. Het blijkt dan dat 1945 en 1947 de enige jaren zijn, waarin aan de twee volgende voorwaarden is voldaan: ten eerste dat de gemiddelde temperatuur na het begin van het jaar beneden 0° is geweest en ten tweede dat



Gemiddelde temperaturen in Nederland, 1944-1951. De tijd tussen ontwaken uit winterrust en bloei bij Victoria-pruim is gearceerd.

Mean temperatures in the Netherlands, 1944-1951. Time between waking up from winter-rest and blossoming in Victoria-plums is hatched.

daarna spoedig hoge temperaturen optraden, dus anders gezegd: dat de overgang van winter- naar zomertemperaturen zeer snel verliep. In 1945, waarin de koude tot eind Januari aanhield, vormden Februari en de eerste helft van Maart nog een overgangsperiode, doch in de tweede helft van Maart steeg de temperatuur reeds tot een hoogte zoals in geen der overige jaren in deze tijd voorkwam, en daarna volgden in April en Mei opnieuw abnormaal hoge temperaturen. Het jaar 1947 vertoont een nog snellere overgang.

In alle overige jaren verliep deze overgang veel geleidelijker; in Januari 1950 is de gemiddelde temperatuur wel even beneden 0° geweest, doch daarna duurde het tot begin Mei voor de 10° werd bereikt en voor 1951 vertoont de temperatuurlijn een nog vlakker verloop. In dit laatste jaar is de loodglansziekte dan ook zeer hevig opgetreden. De inventarisatie kon in 1951 niet volledig plaats hebben, zodat nauwkeurige cijfers hieromtrent ontbreken; bij verspreide waarnemingen werd echter sterke achteruitgang bij veel aangetaste bomen geconstateerd en ook uit de praktijk kwamen berichten over zeer veelvuldig voorkomen van de ziekte; men zie o.a. Mededelingen van de Rijkstuinbouwconsulent voor Plantenziekten 1951 blz. 86.

Blijkbaar vindt *Stereum purpureum* dus weinig gelegenheid zijn parasitaire eigenschappen te ontplooiën, indien de temperatuur in het voorjaar slechts gedurende korte tijd tussen winter- en zomertemperatuur blijft. Dit is in overeenstemming met het feit dat in landen met continentaal klimaat de loodglansziekte weinig te betekenen heeft, want de meest kenmerkende eigenschap van het continentale klimaat is juist de plotselinge overgang van winter in zomer en omgekeerd.

VERKLARING VAN DE INVLOED VAN DE WEERSOMSTANDIGHEDEN OP HET NATUURLIJK HERSTEL VAN DE LOODGLANSZIEKTE

Wanneer de temperatuur tot het vriespunt daalt, houdt de groei van *Stereum purpureum* op, evenals bij de meeste andere schimmels. Door CARTWRIGHT en FINDLAY, (1934) werd het verband tussen temperatuur en groeisnelheid voor verscheidene houttrottende schimmels nagegaan; voor *S. purpureum* vonden zij 3 °C als laagste temperatuur, waarbij nog enige groei was te constateren. Tijdens vorstperioden zal de schimmel dus in rusttoestand verkeren en geen schade aanrichten; eerst wanneer de temperatuur althans gedurende een deel van het etmaal belangrijk boven het vriespunt stijgt zal hij weer vorderingen kunnen maken.

Nu is het echter bekend dat bij pruimen in de zomer een tijdelijke resistentie tegen loodglansziekte voorkomt, en wel speciaal in warme perioden. Inoculaties met *S. purpureum*, uitgevoerd in Maart of April bij een gevoelig ras, slagen bijna altijd, doch later in het jaar is de kans op infectie sterk afhankelijk van het weer. Blijft het in Mei, Juni en Juli koel, dan ziet men ook in deze maanden na inoculatie in den regel spoedig de loodglanssymptomen te voorschijn komen, doch wanneer in deze tijd warm zomerweer intreedt, wordt de infecteerbaarheid direct veel geringer; in Augustus slagen inoculaties slechts zelden. Ook op andere wijze komt bij de pruimen de verhoogde resistentie in de zomer tot uiting: men kan dikwijls opmerken dat bij zieke bomen de bladeren, die zich in Juli en Augustus nog ontplooiën, groen blijven, zodat zich dan aan één tak zieke en gezonde bladeren in elkanders onmiddellijke nabijheid bevinden. Blijkbaar neemt dus de parasitaire activiteit van *Stereum purpureum* in de loop van de zomer weer af, en wel sneller, naarmate de temperatuur sneller stijgt. Hij verkeert dus in optimale

conditie voor parasitaire werkzaamheid in de tijd waarin de temperatuur boven het vriespunt is gekomen, maar nog niet tot zomerhitte is gestegen. Dit in aanmerking nemende is het te begrijpen dat in jaren waarin deze periode kort duurt de loodglansziekte van weinig betekenis zal zijn en omgekeerd.

Nu doet zich de belangrijke vraag voor: waardoor komt er in de zomer een einde aan de parasitaire werkzaamheid van *S. purpureum*? Het is niet waarschijnlijk dat dit op directe invloed van de temperatuur op de schimmel zou berusten, want de optimum temperatuur voor zijn groei ligt volgens CARTWRIGHT en FINDLAY bij 27°, dus vrij hoog, en pas bij 35° houdt de groei op. Hoewel wij niet over gegevens beschikken over de temperatuur die bij felle zonbestraling in het inwendige van de bomen wordt bereikt, mogen wij toch wel aannemen dat deze niet zo hoog wordt dat de groei van *S. purpureum* er door onmogelijk wordt gemaakt. Wij zullen naar onze mening dan ook de oorzaak moeten zoeken in een verandering in de eigenschappen van de hogere plant, waardoor deze tot een minder geschikt milieu voor de parasiet wordt. Ook BROOKS schreef de verhoogde resistentie in de zomer aan reacties van de bomen toe en dacht hierbij speciaal aan de gomvorming, die in warme jaargetijden optreedt in het hout van de pruimen in de omgeving van wonden of van een parasitaire aantasting. Deze gom in de houtvaten zou een barrière vormen voor de schimmel, die aldus de weg voor verdere uitbreiding versperd zou vinden. Hogere resistentie van bepaalde pruimenrassen zou volgens BROOKS ook berusten op een sterker vermogen tot gomvorming van deze rassen (BROOKS en BRENCHELY, 1931). Deze barrières zouden zich pas volledig vormen in de zomer van het jaar volgende op het jaar waarin de infectie met *S. purpureum* plaats had.

Om verschillende redenen menen wij echter dat deze barrière-theorie niet opgaat. Uit proeven is gebleken dat het mycelium van *S. purpureum* in een gevoelig ras (Victoria) met volkomen gelijke snelheid groeit als in een resistent ras (Ontario) en dat niettemin de loodglanssymptomen in het gevoelige ras veel sterker tot uiting komen dan in het resistente. Dergelijke proeven zijn uitgevoerd door Ir A. F. VLAG, Ir H. F. BANNINK en Ir W. S. DUVEKOT (door de beide laatste tijdens hun studie aan de Landbouwhogeschool). In het voorjaar werden van beide rassen een aantal takken geïnoculeerd en daarna werden telkens met tussenpozen van een maand enige van deze takken afgesneden en werd onderzocht tot op welke afstand van de inoculatieplaats de schimmel uit het hout was terug te isoleren. Door Ir DUVEKOT werd gevonden dat na drie maanden de schimmel in beide rassen reeds een afstand van 40 cm had afgelegd, in beide richtingen van de inoculatieplaats af. (De groeisnelheid was dus niet groter in de richting van de top van de takken, zoals dikwijls wordt beweerd). Het is moeilijk in te zien hoe een barrière die zich pas ruim een jaar na de infectie vormt, de boom nog zou kunnen beschermen tegen een schimmel die zich met een dergelijke snelheid door de boom verspreidt. Ir BANNINK verrichtte deze proeven in 1947, één van de jaren dus, waarin de loodglansziekte zeer weinig te betekenen had en deed een merkwaardige vondst: nadat in Mei en Juni het mycelium nog flinke vorderingen had gemaakt, was het in Juli en latere maanden niet meer mogelijk, de schimmel uit het hout terug te isoleren. Microscopisch was de schimmel nog wel terug te vinden, doch de verspreiding in het hout bleek niet verder te gaan dan de hiervoor in Juni reeds gevonden omvang. Ook aan de bruine verkleuring, die de schimmel in het hout veroorzaakt, was dit te zien. De schimmel had dus de groei gestaakt en was zelfs waarschijnlijk afgestorven, doch van donkere gommassa's,

die de schimmel zouden insluiten, was niets te ontdekken. Hieruit blijkt dus, dat de stagnatie in de groei van de schimmel op een andere oorzaak berust dan op de vorming van gom-barrières. Op de vraag wat die oorzaak dan wel mag zijn, menen wij ten antwoord te moeten geven, dat dit moet berusten op de aanwezigheid van stoffen in het hout die de groei van de schimmel ongunstig beïnvloeden; deze stoffen moeten in de bladeren zijn gevormd bij de koolzuurassimilatie en daarna naar andere delen van de plant zijn vervoerd. Dat deze veronderstelling niet geheel uit de lucht is gegrepen, bewijst het feit dat extracten uit pruimebladeren de groei van *Stereum purpureum* op kunstmatige voedingsbodem vertragen. Wij hebben dit zowel met bladeren van Victoria als van Ontario kunnen aantonen. Van welke aard deze stoffen zijn moeten wij voorlopig in het midden laten; het kunnen stoffen zijn die in zeer kleine hoeveelheden worden gevormd, van het karakter van groeistoffen of remstoffen. Het is echter ook mogelijk dat sommige van de hoofdproducten van de koolzuurassimilatie door de schimmel slecht worden verdragen. Het is bekend dat sommige suikers, b.v. sorbose, de groei van bepaalde schimmels ongunstig kunnen beïnvloeden (BARNETT en LILLY, 1951).

Dat de intensiteit van de koolzuurassimilatie in een aantal gevallen van groot belang is voor de resistentie van planten tegen parasitaire schimmels is door de Italiaanse onderzoeker SEMPIO door middel van verschillende proeven aangetoond. Volgens hem zou in het algemeen de resistentie bepaald worden door de mate, waarin de koolzuurassimilatie (opbouw) overheerst over de ademhaling (afbraak). In hoeverre deze theorie algemeen geldig is willen wij thans buiten beschouwing laten; een bevestiging werd gevonden in het feit dat jonge iepenzaailingen (tot 2-jarige leeftijd) die normaal niet met verwelkingssymptomen reageren op inoculatie met *Ceratostomella ulmi*, dit wel doen indien ze eerst een aantal dagen in donker worden gehouden (CAROSSELLI en FELDMAN, 1951).

De veronderstelling is dus gewettigd dat de oorzaak van de zomerresistentie van pruimen tegen loodglansziekte is te zoeken in de koolzuurassimilatie, die begint wanneer in het voorjaar de bladeren zich ontplooien en langzamerhand aan intensiteit wint naarmate de zonbestraling toeneemt en de temperatuur stijgt. Hoe vroeger in het jaar deze inzet (of liever: hoe korter na het ogenblik, waarop de temperatuur is gestegen tot een hoogte waarbij schimmelgroei weer mogelijk wordt), hoe minder wordt de zwam heeft om schade aan te richten.

Over gegevens omtrent de tijd van bladontplooiing in de verschillende jaren beschikken wij niet, wel over het begin van de bloei, die steeds zeer korte tijd aan de bladontplooiing vooraf gaat. In 1945 begon deze buitengewoon vroeg, als gevolg van de in Maart opgetreden abnormaal hoge temperatuur; in April en Mei volgden daarna opnieuw perioden met voor deze maanden ongewoon zonnig en warm weer. In 1947 was de gemiddelde temperatuur eerst ongeveer 10 Maart boven 0° gekomen, terwijl de bloei slechts kort na de normale tijd inzette. Het is dan ook niet te verwonderen, dat in deze beide jaren de loodglansziekte zeer weinig had te betekenen.

Dat de zomerresistentie in korte tijd kan worden opgewekt tijdens perioden van zonnig warm weer in de zomer is nu ook duidelijk, aangezien in dergelijke perioden sterke belichting en hoge temperatuur samengaan en deze beide samen juist de koolzuurassimilatie sterk kunnen doen toenemen (WASSINK, 1947, blz. 380).

De resistentie zal zich zo volledig mogelijk hebben ontwikkeld wanneer het

hout van de bomen de maximale hoeveelheid assimilaten heeft verzameld, en zal voortduren zolang deze assimilaten hierin blijven opgeslagen, dus gedurende het najaar en de winter. Behalve door de lage temperatuur zal dus ook hierdoor de parasitaire werkzaamheid van *Stereum purpureum* gedurende de winter worden tegengegaan. Wanneer de bomen uit het stadium van de winterrust worden opgewekt begint echter de afvoer van de assimilaten uit het hout, en hiermee neemt ook de resistentie een einde. Jaarlijks maken de bomen dus een vatbare periode door, waarvan de lengte afhankelijk is van de tijd die verloopt tussen het einde van de winterrust en de ontplooiing van de bladeren. Deze tijd is in fig. 1 door een gearceerd blokje aangegeven. Als tijdstip van bladontplooiing is hierbij de tijd aangenomen waarop het ras Victoria bloeide; als einde van de winterrust de tijd waarop swelling van de knoppen het eerst waarneembaar was. De korte duur van deze tijdvakken voor 1945 en vooral voor 1947 komt duidelijk te voorschijn.

Natuurlijk zullen de weersomstandigheden in de tijd volgend op de ontplooiing van de bladeren ook nog van grote invloed zijn op de snelheid waarmee de resistentie zich weer herstelt; zeer zonnig en warm weer in deze tijd zal de assimilatie onmiddellijk krachtig in gang zetten en dus bevorderlijk zijn voor vroeg optreden van de resistentie. Dit is in 1945 ongetwijfeld gebeurd.

Herstel van de loodglansziekte zal dus te verwachten zijn bij die bomen die voor de koolzuurassimilatie in de gunstigste omstandigheden verkeren; goede belichting en goede ontwikkeling van het bladgroen zullen hiervoor dus noodzakelijk zijn.

Tenslotte blijft nog de vraag over in hoeverre wij dit nieuwe inzicht kunnen dienstbaar maken aan de practische bestrijding van de loodglansziekte. Open snoei, waardoor licht tot in het binnenste van de bomen doordringen en niet te dichte stand zullen in de eerste plaats hiertoe kunnen bijdragen.

Of het ook mogelijk zal zijn de koolzuurassimilatie nog op andere wijze te bevorderen, b.v. door maatregelen die ten doel hebben de bladgroenvorming te verhogen, zal het verdere onderzoek moeten uitmaken; enkele voorlopige proeven hebben enige hoop gegeven dat in dit opzicht wel iets valt te bereiken.

SAMENVATTING

Op grond van jaarlijkse inventarisatie van de loodglansziekte in een aantal pruimenboomgaarden in de Betuwe is voor elk van de jaren 1944 tot en met 1950 berekend bij welke percentages van de aangetaste bomen van het ras Victoria de toestand was achteruitgegaan, gelijk gebleven of vooruitgegaan, vergeleken bij het voorafgaande jaar en bij welk percentage van de voorheen nog gezonde bomen in elk dezer jaren voor het eerst loodglansziekte werd geconstateerd. De gevonden getallen zijn vergeleken met de waarnemingen over het ziekteverloop bij aangetaste bomen, waarop bestrijdingsproeven volgens de boorgatmethode waren toegepast; het blijkt dat bij bomen waaraan volgens deze methode vast oxychinolinesulfaat was toegediend, belangrijk meer vooruitgang in de toestand is te constateren dan bij onbehandelde bomen.

Het verloop van de ziekte bij onbehandelde bomen liep in de verschillende jaren sterk uiteen; in de jaren 1945 en 1947 trad de loodglansziekte belangrijk minder hevig op dan in andere jaren; in deze jaren werd dan ook de meeste vooruitgang gevonden. In deze beide jaren waren de weersomstandigheden in

het voorjaar gekenmerkt door zeer snelle overgang van winter- en zomer-temperaturen, in tegenstelling met alle overige jaren waarover dit onderzoek loopt. Het is aan te nemen dat onder dergelijke omstandigheden *Stereum purpureum* zeer weinig parasitaire werkzaamheid kan uitoefenen, daar hij bij temperaturen omstreeks het vriespunt geen groei meer vertoont en bij hoge temperaturen de bomen een tijdelijke resistentie verkrijgen.

Het is waarschijnlijk, dat deze tijdelijke resistentie wordt veroorzaakt door de aanwezigheid van stoffen, die de groei van de schimmel tegengaan en niet door gombarrières, die de schimmel de weg zouden versperren. Deze stoffen moeten in de bladeren zijn gevormd bij de koolzuurassimilatie; hoe vroeger in het jaar de bladeren zich ontplooiën, hoe eerder de resistentie kan optreden. Sterke belichting en hoge temperatuur samen versnellen de koolzuurassimilatie; dienen-gevolge wordt de resistentie door warm, zonnig weer sterk verhoogd.

Maatregelen ter bestrijding van de loodglansziekte zullen moeten zijn gericht op bevordering van de koolzuurassimilatie.

SUMMARY

An annual survey of silver-leaf disease was made in each of the years 1944 to 1950 inclusive, in a number of plum-orchards in the Betuwe. Records were made each year of the numbers of trees of the variety Victoria in which the disease had progressed, remained unchanged or diminished, as well as of the numbers of newly diseased trees for each of these years.

The course of the disease was compared in trees left untreated and in others treated with solid oxyquinolinesulphate by the bore-hole method; the treated trees showed significantly more recovery as compared with untreated trees.

The incidence of the disease varied greatly in the different years. In 1945 and 1947 the silver-leaf effect was generally very mild and the highest rate of recovery occurred. In these two years the weather in the spring was characterised by a very much quicker change from winter to summertemperatures, as compared with the other years of the investigation. Similar climatic conditions prevail in continental areas, and in these silver-leaf disease is of little or no importance.

In summer the trees acquire a temporary resistance to the disease. Possibly the temporary resistance is caused by the presence of substances inhibitory to the growth of the fungus; it is certainly not due to the formation of gum-barriers blocking the way for further spread of the parasite, as some investigators have suggested. The inhibitory substances may perhaps be formed in the leaves as products of carbon dioxide assimilation. This would account for the fact that the sooner the leaves unfold in spring, the sooner the resistance develops. Strong illumination and simultaneous high temperatures accelerate the assimilation, which may again explain the greatly increased resistance noted in warm sunny weather in summer.

It may be that the resistance lasts until the stored products of the assimilation in the wood are carried back again to the buds at the end of the winter; the trees would then again enter into a susceptible period. It is possible that the length of this period could determine the incidence of silver-leaf disease in the current year.

From the foregoing it would appear that pruning methods allowing entrance of light to all parts of the tree should aid in controlling the disease.

- BARNETT, H. L. en V. G. LILLY – 1951. The inhibitory effects of sorbose on fungi. *Science* 114: 439–440.
- BROOKS, F. T. en H. H. STOREY – 1923. Silver-leaf disease IV. *J. Pom. Hort. Sci.* 3: 1–25.
- BROOKS, F. T. en W. C. MOORE – 1926. Silver-leaf disease V. *J. Pom. Hort. Sci.* 5: 61–97.
- BROOKS, F. T. en G. H. BRENCHLEY – 1931. Silver-leaf disease VI. *J. Pom. Hort. Sci.* 9: 1–29.
- BROOKS, F. T. en G. H. BRENCHLEY – 1935. A note on the recovery from silver-leaf disease of plum trees on common plum and on myrobalan stocks respectively. *J. Pom. Hort. Sci.* 13: 135–139.
- CAROSELLI, N. E. en A. W. FELDMAN – 1951. Dutch elm disease in young seedlings. *Phytopath.* 41: 46–51.
- CARTWRIGHT, K. S. G. en W. P. K. FINDLAY – 1934. Studies in the physiology of wood-destroying fungi II. Temperature and rate of growth. *Ann. Botany* 48: 481–495.
- GROSJEAN, J. – 1949. Omvang en verloop van de loodglansziekte bij een aantal pruimen-rassen in de Betuwe, gedurende de jaren 1941 tot en met 1946. *T. Pl.ziekten* 55: 212–221.
- GROSJEAN, J. – 1951. Onderzoekingen over de mogelijkheid van een bestrijding van de loodglansziekte volgens de boorgat-methode. *T. Pl.ziekten* 57: 103–108.
- SEMPIO, C. – 1950. Metabolic resistance to plant diseases. *Phytopath.* 40: 799–819.
- WASSINK, E. C. – 1947. De photosynthetische koolzuurassimilatie. *Leerboek der Algemene Plantkunde*, onder red. van Koningsberger en Reinders. deel II.
- Verder zijn gegevens ontleend aan onderzoekingen verricht door Ir A. F. VLAG, Ir H. F. BANNINK en Ir W. S. DUVEKOT (niet gepubliceerd).

ACTUALITEITEN EN VOORLOPIGE MEDEDELINGEN

NEDERLANDSE PLANTENZIEKTENKUNDIGE VERENIGING. Aan de jaarlijkse excursie, gehouden op 6 Juni ll. namen ongeveer 30 personen deel. Tijdens het bezoek aan de Proeftuin „Noord-Limburg” werden de deelnemers op de hoogte gebracht van enkele problemen uit de augurken- en komkommerteelt, zoals Mg-gebrek en virus-ziekten. Proeven met bestrijdingsmiddelen tegen het wegvallen van kiemplanten werden getoond. Bij bezoeken aan verschillende bedrijven trokken o.a. virus-ziekten en kanker van tomaat de aandacht, benevens beschadiging door insecten van kool en asperge. Een woord van dank aan de leiders van deze excursie: de heer F. TJALLINGII en medewerkers, is hier zeker op zijn plaats.

DE MOGELIJKHEDEN TOT REORGANISATIE VAN DE WAARSCHUWINGSDIENST VOOR AARDAPPEL-ZIEKTE – J. J. POST en C. RICHEL, *Landb.k. Tijdschr.* 1951, 63 (2): 77–95. De waarschuwingen per radio, die door het K.N.M.I. te De Bilt gegeven worden over een te verwachten uitbreken van de aardappelziekte (*Phytophthora infestans*) berusten op een samenspel van een 4-tal weersfactoren, die in 1926 door Prof. VAN EVERDINGEN werden aangewezen (dauw, temperatuur, bewolking, regenval).

De hiervoor benodigde waarnemingen worden geregistreerd in waarnemingsposten, die op 40 cm hoogte in, op of nabij aardappelvelden zijn geplaatst.

Om een snellere en meer eenvoudige berichtgeving te bevorderen hebben J. J. POST en C. RICHEL nagegaan of met behoud van een even grote betrouwbaarheid volstaan zou kunnen worden met twee criteria nl. de temperatuur en de vochtigheid.

Zij deden dit in navolging van BEAUMONT in Engeland, die met deze twee criteria even betrouwbare voorspellingen meent te kunnen doen als met de vier criteria, zoals in ons land gebruikelijk is.

Tegelijkertijd hebben POST en RICHEL nagegaan of gebruik zou kunnen worden gemaakt van de weerkundige gegevens van de zogenaamde synoptische stations, die op alle vliegvelden in Nederland aanwezig zijn. De waarnemingen in deze stations worden gedaan op een hoogte van 2,20 m.

Hun onderzoek wees uit, dat „wanneer de relatieve luchtvochtigheid (gemiddelde van de waarnemingen van 8, 14 en 19 uur A.T.) gedurende twee achtereenvolgende dagen 82% of meer bedraagt (waarbij op een van beide dagen de gemiddelde waarde tot 79% mag dalen), terwijl op één van beide dagen de minimum temp. 10 °C of hoger is, de weersomstandigheden als critiek voor het optreden van de aardappelziekte moeten worden beschouwd.

De resultaten, welke werden bereikt met behulp van de voorgestelde organisatie zijn voor zover het beschikbare cijfermateriaal een beoordeling toelaat, bevredigend te noemen”.

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

JAARGANG 58 - 1952

5e AFLEVERING

17 NOV 1952

Em 86



Uitgave van de
**NEDERLANDSE PLANTENZIEKTENKUNDIGE
VERENIGING**

Onder Redactie van

Mej. H. L. G. DE BRUYN; Dr J. A. A. M. H. GOOSSENS; Ir P. HUS;
Prof. Dr A. J. P. OORT en Dr H. J. DE FLUITER (Secretaris)

Redactie-adres: Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek,
Binnenhaven 4a, Wageningen

INHOUD

HOOFDARTIKELEN

- | | Blz. |
|---|------|
| Dr D. NOORDAM - Virusziekten bij chrysanten in Nederland. <i>With a summary: Virus diseases of Chrysanthemum indicum in the Netherlands</i> | 121 |
| Dr Ir G. S. VAN MARLE - Bladrollers in sering. <i>With a summary: Leafrollers on lilacs</i> | 191 |

BOEKBESPREKINGEN

- | | |
|---|-----|
| N. E. STEVENS & R. B. STEVENS. <i>Disease in Plants. An Introduction to Agricultural Phytopathology</i> (door OORT) | 196 |
| T. GOODEY. <i>Soil and Fresh water Nematodes</i> (door SEINHORST) | 197 |

ACTUALITEITEN EN VOORLOPIGE MEDEDELINGEN

- | | |
|--|-----|
| Bomen vergiftigd door mijn-gas - Th. J. DE VIN | 198 |
| Resistente vliegen? - Drs F. E. LOOSJES | 198 |
| Pas op met onkruidbestrijdingsmiddelen - Drs F. E. LOOSJES | 198 |
| Sterke uitbreiding van de muskusratten - Dr E. VAN KOERSVELD | 198 |

BESTUUR

VAN DE NEDERLANDSE PLANTENZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Dr J. G. ten Houten, Wageningen, *voorzitter*.

Mej. Dr L. C. P. Kerling, Binnenhaven 4, Wageningen, *secretaresse*.

Dr Ir J. W. Seinhorst, Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen, *penningmeester*. Postrekening no 346310 t.n.v. Penningm. Ned. Plantenziektenkundige Vereniging, Wageningen.

Ir C. W. C. van Beekom, Middelharnis.

G. Houtman, Hoorn.

A. van Herwijnen, St Pancras

Mej. A. L. van Beverwijk, Baarn.

Lidmaatschap Ned. Plantenziektenkundige Vereniging

Nederland, Indonesië, Suriname en Curaçao f 5,—, België f 5,50 of 75 francs, Buitenland f 6,—.

Leden ontvangen het tijdschrift gratis.

Abonnement Tijdschrift

Nederland, Indonesië, Suriname en Curaçao f 7,—, België f 7,— of 90 francs. Buitenland f 10,—.

Betalingen op postrekening 346310 t.n.v. Penningmeester Ned. Plantenziektenkundige Vereniging te Wageningen. Voor België op Postrekening 115754 van de Heer G. Roland, ingénieur agronome te Gembloux.

Advertentiën

Prijzen per plaatsing: $\frac{1}{8}$ pag. f 7,50, $\frac{1}{4}$ pag. f 12,50, $\frac{1}{2}$ pag. f 20,—, 1 pag. f 35,—.

Bij 3 maal plaatsen van dezelfde advertentie 10 procent korting.

Bij 6 maal plaatsen van dezelfde advertentie 20 procent korting.

Voor plaatsing wende men zich tot de secretaris der Redactie-Commissie, p.a. Binnenhaven 4a, Wageningen, tel. 2151, of tot H. Veenman & Zonen, Wageningen, tel. 2242.

Het Augustus/September-nummer van de „*Mededelingen Directeur van de Tuinbouw*” is geheel gewijd aan de verslagen der voordrachten, gehouden op de Tuinbouwdagen 1952. Voor onze lezerskring zijn vooral de voordrachten van sectie III, Phytopathologie, van belang. Wij laten hier een overzicht van de inhoud van deze sectie volgen.

1. Herkenning en genezing van enige virusziekten, door prof. dr ir T. H. Thung. *With a summary: Diagnosis and curing of some virus diseases.* 12 pp., foto's.
2. Nieuwe wegen in de bestrijding van rondknop op zwarte bes, door prof. dr D. J. Kuenen. *With a summary: New possibilities for the control of Big bud in black currants.* 5 pp. foto.
3. Stip in kool, een virusziekte, door ir H. A. van Hoof. *With a summary: „Stip” (specks) in cabbage, a virus disease.* 16 pp., foto's grfkn en tabn.
4. Van moederkorenvergiftiging tot moederkorencultuur, door prof. dr A. J. P. Oort. *With a summary: From ergotism to ergot cultivation.* 15 pp., foto's, graf.
5. Doel en werkzaamheden van de afdeling Resistentie-onderzoek van het I.P.O., door dr J. C. s'Jacob. *With a summary: Objectives and duties of the Plant Disease Resistance Department of the Institute of Phytopathological Research.* 15 pp., foto's.
6. Aaltjesziekten in tuinbouwgewassen, door dr ir J. W. Seinhorst. *With a summary: Eelworms menacing horticultural crops.* 4 pp., foto's.
7. Factoren die de werking van bestrijdingsmiddelen beïnvloeden, waaraan in de practijk nog onvoldoende aandacht wordt besteed, door dr A. F. H. Besemer. *With a summary: Factors affecting the action of crop protecting products, not yet duly taken notice of in practice.* 6 pp.

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

Onder redactie van Mej. H. L. G. DE BRUYN; Dr J. A. A. M. H. GOOSSENS;
Ir P. HUS; Prof. Dr A. J. P. OORT en Dr H. J. DE FLUITER (Secretaris)

Redactie-adres: p/a Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek,
Binnenhaven 4a, Wageningen

Drukkers-Uitgevers: H. Veenman & Zonen - Wageningen

58e JAARGANG (1952)

5e AFLEVERING

SEPT.-OCT.

VIRUSZIEKTEN BIJ CHRYSANTEN IN NEDERLAND

With a Summary: Virus diseases of Chrysanthemum indicum in the Netherlands

DOOR

DR D. NOORDAM

Onderzoeker bij het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek (I.P.O.) te Wageningen
gedetacheerd bij het Proefstation voor Bloemisterij te Aalsmeer

INHOUD

	Pag.
SAMENVATTING	123
I. INLEIDING	126
II. LITERATUUR OVER VIRUSZIEKTEN VAN CHRYSANTEN	127
III. BESCHRIJVING DER ZIEKTEVERSCHEIJNSELEN EN VASTSTELLING VAN DE ZIEKTEOORZAKEN	132
A. Algemene inleiding	132
B. Beschrijving van de ziekteverschijnselen bij een aantal chrysanten- variëteiten	133
C. Opsomming van de onderzochte chrysantenvariëteiten, ingedeeld naar het virus dat erin werd aangetroffen	136
D. Opsomming van de onderzochte chrysantenvariëteiten, ingedeeld naar de meest opvallende virusverschijnselen	138
IV. CUCUMIS VIRUS 1 VAN CHRYSANT	140
A. Sapinoculatie op toetsplanten	140
B. Sapinoculatie op Chrysanthemum indicum	145
a. Op zaailingen	145
b. Op chrysantenvariëteiten	146
C. Eigenschappen in perssap	147
a. Verdunningsgrens	147
b. Inactiveringstemperatuur	150
c. Inactivering tijdens het bewaren	151
	121

	Pag.
D. Zuivering	152
E. Gegevens verkregen met electronenmicroscopie	154
F. Serologie	156
G. Overbrenging door bladluizen	161
H. Premuniteit ten opzichte van 2 andere stammen van Cucumis virus 1	162
V. VIRUS B	168
A. Sapinoculatie op toetsplanten	168
B. Sapinoculatie op Chrysanthemum indicum	170
a. Op zaailingen	170
b. Op chrysantenvariëteiten	171
C. Eigenschappen in perssap	171
a. Verdunningsgrens	171
b. Inactiveringstemperatuur	171
c. Inactivering bij bewaring	173
D. Zuivering	173
E. Gegevens verkregen met electronenmicroscopie	176
F. Serologie	176
VI. STUNTVIRUS	177
A. Sapinoculatie op toetsplanten	177
B. Entingen met chrysanthemum indicum variëteiten	178
VII. VIRUS C	179
VIII. LYCOPERSICUM VIRUS 3 (TOMATO SPOTTED WILT)	180
IX. CONCLUSIES VOOR DE PRACTIJK VAN DE TUINBOUW	181
SUMMARY	183
GERAADPLEEGDE LITERATUUR	187

SAMENVATTING

Van bijna 400 viruszieke planten behorende tot 116 variëteiten van *Chrysanthemum indicum* zijn de ziekteverschijnselen bestudeerd en van verschillende variëteiten beschreven, terwijl tevens op toetsplanten is nagegaan welke viren in deze zieke planten aanwezig waren.

Twee viren bleken veel voor te komen, namelijk:

1. Een virus dat in de loop van het onderzoek geïdentificeerd werd als een stam van *Cucumis virus 1*¹⁾, en hier *Cucumis virus 1 st. Chr.* genoemd is. Deze stam van *Cucumis virus 1* is in reeds eerder verschenen publicaties, toen het nog niet geïdentificeerd was, virus a genoemd.

2. Een onbekend virus, dat is aangeduid met *virus b*.

Bovendien werd, zij het in mindere mate ook *stuntvirus* aangetroffen, terwijl een vierde virus, aangeduid als *virus c*, slechts in één chrysant gevonden werd.

Cucumis virus 1 st. Chr. werd gevonden in chrysanten, bij welke altijd ziekteverschijnselen waren te constateren. De verschijnselen liepen sterk uiteen, waardoor een algemeen ziektebeeld ontbrak.

Virus b vertoonde, zij het in andere chrysanten-variëteiten, soortgelijke ziekteverschijnselen als *Cucumis virus 1 st. Chr.*, maar kwam ook voor in vele chrysanten-variëteiten zonder duidelijke ziekteverschijnselen te veroorzaken. Het meest opvallende ziekteverschijnsel bij *stuntvirus* is groeiremming. Zie Fig. 1 tot 19.

I. CUCUMIS VIRUS 1 ST. CHR.

Cucumis virus 1 st. Chr. was door inoculatie met sap op 17 van 35 onderzochte plantensoorten over te brengen. Van deze planten zijn *Nicotiana glutinosa*, *N. tabacum* en *Petunia hybrida nana compacta* zeer geschikt als toetsplanten te gebruiken.

Van het „type” van *Cucumis virus 1* verschilde de stam, die in chrysanten voorkomt, o.a. doordat deze op augurk (*Cucumis sativus*) vrijwel geen reactie veroorzaakte, en bij *Nicotiana glutinosa* en *Petunia hybrida* een sterke bladmisvorming en -versmalling teweegbracht.

Sap van tabaksbladeren, geïnoculeerd met *Cucumis virus 1 st. Chr.* gaf in een verdunning van 1 : 1000 tot zelfs 1 : 1.000.000 nog een reactie op de toetsplanten. Na verhitting gedurende 10 minuten verdroeg het sap 65°C, maar geen 70°C; bij 50°C vond echter al enige inactivering plaats.

Sap dat bij 23 tot 25°C bewaard werd, gaf soms na 12 uur nog een reactie op toetsplanten, in andere gevallen verloor het virus zijn activiteit reeds na 2 uur.

Door centrifugeren en precipiteren met ammoniumsulfaat is het 2 van de 5 maal gelukt *Cucumis virus 1 st. Chr.* te zuiveren.

Bladluizen, van de soort *Myzus persicae* SULZ., waren na 2 minuten zuigen

¹⁾ Volgens nomenclatuur in: K. M. SMITH, A Textbook of plant virus diseases, 1937.

op een zieke plant reeds in staat het virus op gezonde planten over te brengen.

Met behulp van de precipitatiereactie was het virus in zieke chrysanten serologisch aan te tonen. Door het optreden van spontane vlokkingen of het af en toe achterwege blijven van een reactie was het resultaat niet altijd duidelijk.

Tabakssap met *Cucumis virus 1 st. Chr.* gaf vaak een duidelijke agglutinatiereactie. Ook de gele stam No. 6 van PRICE van *Cucumis virus 1* agglutineerde met het antiserum, zodat het virus van chrysant serologisch verwant bleek te zijn met *Cucumis virus 1*.

Met de electronenmicroscop werden min of meer ronde deeltjes gevonden, maar herhaling van het onderzoek is gewenst om zekerheid te hebben dat deze deeltjes werkelijk als het *Cucumis virus 1 st. Chr.* beschouwd kunnen worden.

Op *Nicotiana glutinosa* en *N. tabacum* beschermden *Cucumis virus 1 st. Chr.*, *Cucumis virus 1* van augurk en de gele stam No. 6 van PRICE min of meer tegen een tweede infectie met 1 van deze 3 viren. Op grond van deze bescherming (premunitie) van de plant, de boven vermelde serologische verwantschapsreactie en de verschijnselen die dit chrysantenvirus op toetsplanten veroorzaakte, kan het besproken chrysantenvirus beschouwd worden als *Cucumis virus 1*, zij het als een afwijkende stam hiervan.

Dat het *Cucumis virus 1 st. Chr.* aansprakelijk gesteld kan worden voor het ontstaan van misleurige en verfrommelde bloemen, zoals deze in de van nature zieke planten voorkomen, werd bewezen door sapinoculatie op enkele chrysantenvariëteiten. Daar de voor deze proef gebruikte planten reeds *virus b* bevatten, is het echter niet uitgesloten dat de waargenomen verschijnselen slechts bij de aanwezigheid van het complex *Cucumis virus 1 st. Chr.* en *virus b* optraden.

II. VIRUS B

Virus b gaf na inoculatie met sap op 7 van de 31 onderzochte plantensoorten een reactie. *Petunia hybrida nana compacta* bleek als toetsplant goed bruikbaar, mits in de te onderzoeken plant niet tevens *Cucumis virus 1 st. Chr.* aanwezig was.

De verdunningsgrens en de inactivering van het virus bij bewaring werden slechts in de zomer onderzocht en konden toen, door het geringe infectievermogen van het virus in dit jaargetijde, niet goed bepaald worden.

Bij 10 minuten verhitten vond in de wintermaanden inactivering plaats tussen 70 en 80 °C, in andere jaargetijden echter tussen 50 en 70 °C.

Zuivering van *virus b* door centrifugeren en precipiteren met ammoniumsulfaat bleek niet mogelijk, wel wanneer in plaats van ammoniumsulfaat alcohol gebruikt werd.

Met behulp van de precipitatiereactie was *virus b* aan te tonen in zieke chrysanten.

Met de electronenmicroscop werden staafvormige deeltjes gevonden, maar herhaling van het onderzoek is gewenst om zekerheid te hebben dat deze deeltjes werkelijk als het *virus b* beschouwd kunnen worden.

III. STUNT¹VIRUS

Stuntvirus, met sap geïnoculeerd op 23 plantensoorten, gaf op geen enkele plant een reactie. Wel gelukte het door enting op de chrysantenvariëteit Blazing Gold (methode volgens BRIERLEY & SMITH 1951) stunt aan te tonen. Wanneer

echter naast *stuntvirus* ook *Cucumis virus 1 st. Chr.* en *virus b* in de zieke plant aanwezig waren, was deze methode niet bruikbaar.

IV. VIRUS C

Virus c, een onbekend virus, dat slechts in één plant aangetroffen werd, was met sap o.a. op *Petunia hybrida* over te brengen. Dit virus is nog onvoldoende onderzocht.

*Lycopersicum virus 3*¹⁾ (Tomato spotted wilt) werd nooit in chrysanten gevonden, maar kon er wel op overgebracht worden.

¹⁾ Volgens nomenclatuur K. M. SMITH in: A Textbook of plant virus diseases, 1937.

I. INLEIDING

Het hier volgend virusonderzoek is in 1949 opgezet naar aanleiding van vragen van kwekers over bepaalde ziekteverschijnselen van chrysanten. Deze chrysanten, alle variëteiten van *Chrysanthemum indicum* L. (*Chr. morifolium* RAM.) toonden zeer duidelijk verschijnselen van virusziekten. Aanvankelijk werden ook bepaalde zwakke verwelkingsverschijnselen, die zich hoofdzakelijk uitten in necrose van de bladranden, aan een virusziekte toegeschreven, maar spoedig bleek, dat hier sprake was van een verwelkingsziekte, veroorzaakt door *Verticillium dahliae* KLEB.

Van de paar duizend variëteiten, die van *Chrysanthemum indicum* geteeld worden, zijn er ongeveer 500 in Nederland in de handel verkrijgbaar. Sinds 1945 worden jaarlijks tientallen nieuwe chrysantenvariëteiten uit Engeland en de Ver. Staten van N. Amerika geïmporteerd. Vooral de uit Engeland geïmporteerde variëteiten vertoonden vaak ernstige ziekteverschijnselen en de zendingen waren soms voor meer dan de helft door virusziekten aangetast (Royal Bronze, Crimson Crown). De ernstige toename van virusziekten in chrysanten, die na 1945 te constateren valt, zal dan ook zeker voor een groot deel veroorzaakt zijn door bovengenoemde import van ziek materiaal. De schade, die deze virusziekten in chrysanten de kwekers berokkent, is verschillend al naar mate blad of bloem of beide virusverschijnselen vertonen.

De virusverschijnselen alleen op de bladeren, waarbij dus de bloemen normaal blijven, zijn in het algemeen van weinig invloed op de handelswaarde van de snijbloem. De viruszieke bloemen echter, die miskleuring vertonen, verfrommeld en vaak ook kleiner dan normaal zijn, geven een mindere kwaliteit en zijn zelfs dikwijls voor de verkoop waardeloos.

Nauwkeurige gegevens over de financiële schade, die de virusziekten in chrysanten in Nederland tweeweg brengen, zijn ons niet bekend. Het zou ons echter niet verwonderen indien deze schade vele procenten zou zijn van de gehele opbrengst, die in 1950 voor alle Nederlandse veilingen tezamen ca f 3.500.000 bedroeg (Tuinbouwgid 1952, p. 112). Ook de stekhandel in binnen- en naar buitenland, zal zeker van deze virusziekten schade ondervinden.

Door de omstandigheid dat chrysanten uitsluitend door stek vermenigvuldigd worden, kan een groot deel van de nakomelingschap ziek zijn indien men bij het stekken van een ziek gewas is uitgegaan. Daarbij komt dat zieke planten, vooral buiten de bloeitijd, dikwijls moeilijk van gezonde te onderscheiden zijn, zodat zelfs bij een oordeelkundige wijze van stekken toch nog de mogelijkheid van het overbrengen van de ziekte blijft bestaan.

Het is dan ook van veel belang, dat ook op andere wijze dan alleen uiterlijk geconstateerd kan worden of een plant ziek is of niet. Naast het inoculeren op toetsplanten zal wellicht de serologie hier mogelijkheden scheppen.

Onze doelstelling bij dit onderzoek is nu de aard van het virus (eventueel meer viren) vast te stellen o.a. door sapinoculaties en serologische methoden, om hiermede te komen tot een beter begrip van de onderzochte chrysantenziekten en zodoende ook tot een betere bestrijding daarvan.

II. LITERATUUR OVER VIRUSZIEKTEN VAN CHRYSANTEN

Alvorens het eigen onderzoek te beschrijven, willen wij beginnen met een opsomming te geven van wat in de literatuur over viren op *Chrysanthemum indicum* is gepubliceerd. Al deze viren kunnen mijns inziens worden ondergebracht tot 7 typen.

De ziekten, die oorspronkelijk als nieuw beschreven zijn, maar waarvan later het vermoeden rees, dat zij aan reeds eerder beschreven virusziekten verwant zijn, worden onder laatstgenoemde ziekten behandeld.

1. *Lycopersicum virus 3*

*Lycopersicum virus 3*¹⁾ (Tomato Spotted Wilt). Het eerst is dit virus beschreven bij chrysanten door BALD en SAMUEL (1931) in Australië. Uitvoeriger beschrijvingen en proeven zijn uit Engeland afkomstig: AINSWORTH (1933, 1936, 1937), SMITH (1935, 1936). Ook in de Ver. Staten van Noord Amerika werd *Lycopersicum virus 3* in chrysanten aangetroffen: GARDNER & WHIPPLE (1934), JONES (1942), WEISS (1948).

BALD & SAMUEL (1931), AINSWORTH (1936, 1937) en ANON. (1949) beschrijven als ziekteverschijnsel naast geelgroene vlekken ook soms ringen en lijnen op de bladeren. Necrotische vlekken op het blad en soms op de stengel kunnen voorkomen, evenals afsterven van oudere bladeren, AINSWORTH (1933, 1937), SMITH (1935 en 1936). De aard van de verschijnselen schijnt sterk afhankelijk te zijn van de chrysantenvariëteit, terwijl ook waargenomen is dat een bepaalde kloon later in het seizoen andere ziekteverschijnselen vertoonde dan in het begin, AINSWORTH (1937).

Verwelken van de bloem wordt alleen door AINSWORTH (1933) vermeld. Streping van de bloem noemt OGILVIE (1934) als kenmerk, maar het is onzeker of in zijn planten *Lycopersicum virus 3* aanwezig was, daar dit virus er niet in kon worden aangetoond.

AINSWORTH (1936) laat zien dat sap van gezonde chrysanten een inactiverende werking uitoefent op perssap van tabak met *Lycopersicum virus 3*, en dat toevoegen van 0,5% Natriumsulfiet anhydr. oplossing bij de chrysantenbladeren waaruit sap geperst wordt, het aantonen van *Lycopersicum virus 3* op toetsplanten in belangrijke mate vergemakkelijkt.

Sapinoculatie van chrysanten met *Lycopersicum virus 3* is alleen door BALD & SAMUEL (1931) beschreven.

De literatuur over *Lycopersicum virus 3*, welke niet direct op *Chrysanthemum indicum* betrekking heeft, is hier niet gerefereerd.

2. *Cucumis virus 1*¹⁾ en *Aspermyvirus*

In Engeland is reeds vele malen een mozaïekziekte van chrysanten beschreven, die door AINSWORTH (1939), SELMAN (1940), SMITH (1946, 1949) en BEWLEY

¹⁾ Volgens nomenclatuur: K. M. SMITH, A Textbook of plant virus diseases, 1937.

& RICHARDS (1951) wordt toegeschreven aan het *Cucumis virus I*, maar door BLENCOWE & CALDWELL (1949) aan een nieuw virus van tomaat, dat zij „*Aspermy*”virus (*Lycopersicum virus 7*) noemen.

Ook in de Ver. Staten is een mozaïekziekte gevonden, die wordt toegeschreven aan *Aspermy virus*, BRIERLEY & SMITH (1951 *b*).

Hoewel de mogelijkheid bestaat dat er inderdaad twee verschillende viren in het spel zijn, is het de vraag of de kruisinoculaties van BLENCOWE & CALDWELL (1949) en BRIERLEY & SMITH (1951 *b*) voldoende bewijskracht hebben om deze scheiding in twee viren te rechtvaardigen.

Wij zullen hieronder de verschillende opvattingen bespreken en beginnen met een overzicht te geven van de verschijnselen, die door bovengenoemde auteurs op chrysanten werden waargenomen, om daarna het onderzoek te vermelden dat door hen is verricht.

Ziekteverschijnselen: AINSWORTH (1939) vermeldt als enig ziekteverschijnsel bij een chrysantenvariëteit Exmouth Crimson een groen tot geel mozaïek op de bovenste bladeren. SELMAN (1940) constateert, naar waarnemingen bij minstens 6 variëteiten, dat de bladeren kleiner zijn dan normaal en dat er slechts zelden een zwak mozaïek optreedt.

Als voornaamste kenmerk noemt SELMAN verkleuring, verdraaiing en kleiner worden van de bloemen; bronskleurige bloemen vertonen gele strepen. BLENCOWE & CALDWELL (1949) en SMITH (1949) noemen behalve deze kenmerken ook nog groeiremming van de plant.

BEWLEY & RICHARDS (1951) beschrijven uitvoerig afwijkingen in de bloemen (met 2 afbeeldingen) en noemen 13 variëteiten bij welke een aantasting door het virus werd waargenomen. Van het Cheshunt Research Station zijn afbeeldingen gepubliceerd van viruszieke chrysantenbloemen waarvan de aantasting mogelijk aan ditzelfde virus te wijten is ANON. (1951 *a*).

BRIERLEY & SMITH (1951 *b*) noemen bij 4 onderzochte chrysanten de ziekteverschijnselen zwak of geheel afwezig.

Onderzoek: AINSWORTH (1939) beschouwt op grond van niet nader beschreven inoculatieproeven, een stam van *Cucumis virus I* als oorzaak, waarbij als afwijking van de verschijnselen van het type virus een veel grotere verdraaiing van de bladeren bij *Nicotiana glutinosa* wordt aangegeven. SELMAN (1940) komt tot dezelfde conclusie als AINSWORTH, nadat hij opgemerkt heeft, dat het chrysantenvirus op tomatenzaailingen verschijnselen geeft, die enigszins afwijken van die van het typische *Cucumis virus I*.

BLENCOWE & CALDWELL (1949) beschrijven verschijnselen op *Lycopersicum esculentum*, *Nicotiana tabacum* en *N. glutinosa*. *L. esculentum* vertoonde uitgroeiingen op de bladsteel, terwijl de draadvormige bladsymptomen (fernleaf) van *Cucumis virus I* blijkbaar niet aanwezig waren. De verschijnselen op *N. tabacum* en *N. glutinosa* schijnen daarentegen niet duidelijk te verschillen van die welke *Cucumis virus I* kan veroorzaken. Op grond van kruisinoculaties echter menen de schrijvers toch hier met *Aspermyvirus* van tomaat te doen te hebben.

SMITH (1949), die sterke verdraaiing en uitgroeiingen op de bladeren van *N. glutinosa* beschrijft, komt op grond van kruisinoculaties tot de conclusie dat het chrysantenvirus een stam is van *Cucumis virus I*. Bovendien geeft hij aan dat het virus door bladluizen overgebracht kan worden. Als waardplanten van dit virus noemt SMITH (1952), *Tropaeolum*, *Phlox drummondii*, *Zinnia*, *Helichrysum*, *Cheiranthus annuus*, *Primula sinensis*, *Lactuca sativa* en *Glycine soja*.

DOOR BEWLEY & RICHARDS (1951) worden geen proeven beschreven.

BRIERLY & SMITH (1951*b*) vermelden verschijnselen op *Nicotiana tabacum*, *N. glutinosa* en *Zinnia*, die doen denken aan die van *Cucumis virus 1*, maar op grond van kruisinoculaties wordt het virus toch, evenals door BLENCOWE & CALDWELL, *Aspermyvirus* van tomaat genoemd. *Myzus persicae* SULZ bracht het virus van chrysant op tabak over op de wijze van een „non persistent” virus. Het virus bleek (één proef) bij 50°C en hoger geïnactiveerd te zijn.

BAWDEN & NIXON (1951) slaagden er niet in met het electronenmicroscop van het *Aspermyvirus* van tomaat in ongezuiverd gecentrifugeerd sap een beeld te vormen. DE BRUYN OUBOTER, BEIJER & VAN SLOGTEREN (1951) daarentegen vonden in gezuiverd sap van tabak geïnoculeerd met een virus van chrysanten, dat hen door mij was verstrekt en dat in mijn onderzoek is aangeduid als *Cucumis virus 1 st. Chr.* ongeveer ronde deeltjes met een diameter van 75–125 m μ .

De literatuur over *Cucumis virus 1*, welke niet direct op *Chrysanthemum indicum* betrekking heeft, is hier niet gerefereerd.

3. Stunt

DIMOCK (1947) beschrijft onder deze naam een ziekte die in de Ver. Staten van N. Amerika in 1945 voor het eerst werd opgemerkt en tot nu toe buiten N. Amerika niet is vermeld (misschien in Duitsland gevonden, ANON. 1951*b*). Een aantal onderzoekers, BRIERLEY (1949), KELLER (1949) en OLSON (1949) bewees dat deze ziekte door een virus veroorzaakt wordt.

De kenmerken van stunt verschillen belangrijk, al naar de chrysantenvariëteit, waarin het virus voorkomt. Het meest algemene kenmerk is groeiremming die zich in de hoogte van de plant en grootte van blad en bloem uit.

Afgezien van een steilere groei der bladeren, die soms ook bleker zijn, worden slechts bij bepaalde chrysantenvariëteiten verkleuringen op de bladeren als kenmerk opgegeven. Zo ziet men b.v. gele banden langs de nerven bij Blazing Gold, BRIERLEY & SMITH (1949), witte vlekken, „measles” bij Mistletoe, KELLER (1950).

Planten die van stunt te lijden hebben, bloeien vroeger dan gezonde planten, DIMOCK (1947), POST (1948). Bij rose-rode en bronskleurige bloemen is de bloemkleur soms bleker dan normaal.

Van de ene chrysant op de andere kan het virus worden overgebracht door enten, BRIERLEY & SMITH (1949), KELLER (1949), MIKKELSEN (1950), met sap, BRIERLEY (1950), BRIERLEY & SMITH (1949), KELLER (1949), OLSON (1949) en met behulp van *Cuscuta*, KELLER (1949).

Overbrenging met behulp van bladluizen gelukte niet, BRIERLEY & SMITH (1951*a*), hoewel zij dit aanvankelijk wel beschreven (1949).

Het *stuntvirus* is ook over te brengen op *Senecio cruentus* D.C. en *Chrysanthemum parthenium* f. *flosculosum* (DC) Beck, maar de ziekteverschijnselen zijn daarop weinig duidelijk, BRIERLEY (1950), BRIERLEY & SMITH (1951*a*). Negentig plantensoorten vertoonden echter geen enkele reactie na inoculatie met *stuntvirus*, KELLER (1950).

Het meest voorkomende kenmerk van stunt, groeiremming, is een weinig betrouwbaar ziektesymptoom, daar het optreden daarvan ook andere oorzaken kan hebben. Hierop wordt gewezen door BAKER, CLARK & KIMBALL (1949) die *Deuterophoma* spp. als oorzaak van groeiremming aantoonde.

Omdat het dikwijls moeilijk is op grond van ziekteverschijnselen met zeker-

heid tot de aanwezigheid van stunt te besluiten, heeft men gezocht naar een betrouwbare toetsmethode, POST (1948), OLSON (1949), KELLER (1949, 1950), BRIERLEY (1950). BRIERLEY & SMITH (1951 *a*) beschouwen de methode van OLSON, die berust op enting op een chrysant van de variëteit Blazing Gold, als de snelste en meest betrouwbare; bevatte de ent *stuntvirus*, dan vertoont de onderstam van Blazing Gold na zes weken lichter groene banden langs de nerven. Niet onvermeld mag blijven dat KELLER (1950) daarentegen bij entingen met stunt op Blazing Gold geen ziekteverschijnselen op de bladeren waarnam, maar wel bij enting op andere chrysantenvariëteiten.

Adviezen voor het doeltreffend selecteren van chrysanten op stunt werden gegeven door POST (1948), OLSON (1949), MIKKELSEN (1950), KOHL, KOFRANEK, POST, HORTON & a. (1950).

Voor „crinkle”, een ziekte veroorzaakt door een combinatie van stunt en Blanche-mozaïek, verwijzen wij naar het „Blanche”-mozaïek.

Een virusziekte „stunt-mottle”, beschreven door WELSH (1948), onderscheidt zich van stunt door het optreden van een mozaïek dat de nerven min of meer begrenst. BRIERLEY & SMITH (1951 *a*) menen echter dat deze ziekte dezelfde is als „stunt” of „crinkle”.

4. „Blanche”-mozaïek

Door KELLER (1950) is Blanche-mozaïekvirus (virus „Q”) beschreven, waarvan hij door enting aantoonde dat het in de variëteit Blanche aanwezig was, zonder op die variëteit ziekteverschijnselen te vertonen. Enting op enkele andere chrysantenvariëteiten bracht duidelijke virussymptomen teweeg. De chrysantenvariëteiten Mistletoe, KELLER (1950), en Good News, BRIERLEY & SMITH (1951 *b*) vertoonden mozaïekverschijnselen en worden door de laatste auteurs als goede toetsplanten beschouwd. Vele chrysantenvariëteiten bleken verder symptoomloze carriers van dit virus.

Het virus is in Amerikaanse, maar ook in één Deense en vier Engelse chrysantenvariëteiten aangetroffen door BRIERLEY en SMITH (1951 *b*). Na sapinoculatie op *Cineraria* konden zij het virus naderhand in *Cineraria* aantonen door inoculaties op chrysant.

Het gelukte niet het virus met bladluizen over te brengen, BRIERLEY & SMITH (1951 *a* en *b*). Daar bij enten en sapinoculatie op chrysant stunt en Blanche-mozaïek niet tegen elkaar beschermden, beschouwt KELLER (1950) deze twee viren als niet verwant.

Een ziekte, „crinkle” genaamd, die bij de chrysantenvariëteit Blanche werd beschreven door BRIERLEY & SMITH (1949, 1951 *a*), wordt, op grond van entingen op chrysanten door KELLER (1950) toegeschreven aan een combinatie van *stuntvirus* en *Blanche-mozaïekvirus*.

5. „Ivory Seagull”-mozaïek.

BRIERLEY & SMITH (1951 *b*) beschrijven een virus dat in de chrysantenvariëteit Ivory Seagull geen ziekteverschijnselen vertoonde, maar op enkele chrysantenvariëteiten, na sapinoculatie, wel virussymptomen opwekte. *Cineraria* en *Matricaria* Golden Ball bevatten, na sapinoculatie met sap van Ivory Seagull, het virus eveneens symptoomloos.

6. „Big Bud”-ziekte van tomaat

Een virusziekte, die in New South Wales op tomaten voorkomt en met behulp van entingen en door *Thamnotettix argentata* EVANS kon worden overgebracht, is onder andere ook op chrysanten aangetroffen, HILL (1943), ANON. (1948).

7. Aster Yellows

Aster yellows door KUNKEL (1926) op chrysanten beschreven, komt volgens BRIERLEY & SMITH (1951) op buitenchrysanten in de U.S.A. geregeld voor en is volgens hen dezelfde ziekte als NELSON (1925) beschreef.

Groene bloemen, zwakke, bleke steil-opgroeïende zijscheuten van bloemstengels, en zwakke grondscheuten met zeer kleine blaadjes zijn drie kenmerken, waarvan er 1 of meer bij een plant kunnen voorkomen. Zieke planten van verscheidene chrysantenvariëteiten bleken meestal binnen een jaar na besmetting te sterven.

Het virus is door sapinoculatie niet over te brengen. Het wordt in de natuur door Jassidae, hoofdzakelijk *Macrostelus divisus* UHLER verspreid, zie o.a. SEVERIN (1934).

De literatuur over aster yellows die niet direct op *Chrysanthemum indicum* betrekking heeft, is hier verder niet gerefereerd.

Mededelingen voor kwekers van het hierna volgende onderzoek zijn reeds eerder gepubliceerd, NOORDAM & v. D. NES (1949), NOORDAM (1950, 1951a, 1951b en 1952 a).

III. BESCHRIJVING DER ZIEKTEVERSCHIJNSELEN EN VASTSTELLING VAN DE ZIEKTEOORZAKEN

A. ALGEMENE INLEIDING

Bij het begin van het onderzoek in het najaar van 1949 gelukte het in de meeste gevallen door sapinoculatie van chrysanten met duidelijke ziekteverschijnselen, op toetsplanten als *Nicotiana tabacum* „White Burley”, *N. glutinosa*, *Petunia hybr.*, typische ziekteverschijnselen te voorschijn te roepen van een virus, dat in de loop van dit onderzoek een stam bleek te zijn van *Cucumis virus 1*¹⁾. Ondanks herhaalde pogingen bleek het echter met andere duidelijk viruszieke chrysanten onmogelijk om op de genoemde toetsplanten ziekteverschijnselen op te wekken.

In Januari 1951 werd echter op *Petunia hybr.* als toetsplant een tot die tijd niet opgemerkte locale reactie geconstateerd, die veroorzaakt werd door een virus, dat we zullen aanduiden als *virus b*.

De methode, die bij de sapinoculaties werd gebruikt, was als volgt: chrysantenbladeren, in een mortier fijngemaakt, werden met de hand door mul (een fijn weefsel) geperst en het zo verkregen sap werd met de vinger over de bladeren der toetsplanten gewreven, die vooraf bestoven waren met carborundumpoeder 500 mesh. Enkele minuten na de sapinoculatie werden de toetsplanten besproeid of afgewaterd met water.

Vermeld dient nog te worden, dat vóór het fijnmaken van de chrysantenbladeren, om een betere reactie te verkrijgen (speciaal van het *virus b*), gewoonlijk per 100 g bladeren 1 g Natriumsulfiet ($\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) aan de bladeren werd toegevoegd (zie p. 171 e.v.).

Als toetsplanten gebruikten wij *Nicotiana tabacum* „White Burley”, *N. glutinosa* en *Petunia hybrida nana compacta* gemengd en later *P. hybrida nana compacta* „Celestial” (een enkele maal ook nog andere variëteiten van *Petunia hybrida*). De toetsplanten werden gebruikt in een stadium, waarop 3–4 bladeren aanwezig waren; *Petunia* werd echter, ter verkrijging van een reactie van *virus b*, ook wel gebruikt als plant met 6–7 bladeren.

Voor de aard van de reactie van *Cucumis virus 1 st. Chr.* en *virus b* op deze toetsplanten zie men p. 140 en 168.

Door sapinoculatie op bovenvermelde wijze zijn in totaal 394 chrysanten, behorende tot 116 variëteiten, op de aanwezigheid van virus onderzocht, met het volgende resultaat:

183 chrysanten aangetast door *Cucumis virus 1 st. Chr.*

120 chrysanten aangetast door *virus b*.

11 chrysanten met een onbekende of twijfelachtige reactie.

53 chrysanten zonder reactie, terwijl de chrysanten wel ziekteverschijnselen vertoonden.

27 chrysanten zonder reactie, terwijl de chrysanten een gezond uiterlijk hadden.

¹⁾ Nomenclatuur volgens K. M. SMITH, A Textbook of Plant Virus Diseases, 1937.

Er dient hier op gewezen te worden dat het niet uitgesloten is, dat in de 183 chrysanten met *Cucumis virus 1 st. Chr.* tevens *virus b* aanwezig was. Dit kan op *Petunia* als toetsplant slechts zelden uitgemaakt worden, doordat *Cucumis virus 1 st. Chr.* meestal de geïnoculeerde bladeren van *Petunia* tot afsterven brengt, vóórdat enige reactie van *virus b* is te verwachten. Bij in ieder geval 23 van de 183 chrysanten bleek *Cucumis virus 1 st. Chr.* en *virus b* beide in de chrysanten aanwezig te zijn.

Cucumis virus 1 st. Chr. en *virus b* zouden, op grond van de diagnose op toetsplanten, dus voor het merendeel der waargenomen ziekteverschijnselen verantwoordelijk gesteld kunnen worden.

Van de 53 planten, die wel ziekteverschijnselen vertoonden, maar waarbij geen reactie op de toetsplanten waar te nemen was, zijn er 27, die reeds vernietigd waren, voordat de methode voor het aantonen van *virus b* gevonden was. Het blijft dus onzeker of deze 27 planten door *virus b* waren aangetast. Indien we deze 27 daarom buiten beschouwing laten, blijven er van de 53 planten zonder reactie nog 26 over, die toch kennelijk virusziek waren. Naderhand werd bij 9 van deze planten, met de op p. 178 beschreven entmethode, het in N. Amerika veel voorkomende virus stunt gevonden. Niet onmogelijk zijn 10 van de dan nog resterende 17 chrysanten eveneens door stunt aangetast (dit is echter nog niet onderzocht). Deze planten waren namelijk alle uit N. Amerika geïmporteerd en vertoonden het voor stunt als meest typisch opgegeven kenmerk: groeiremming (zie p. 130).

B. BESCHRIJVING VAN DE ZIEKTEVERSCHIJNSELEN BIJ EEN AANTAL CHRYSANTENVARIËTEITEN

De ziekteverschijnselen bij de 116 onderzochte chrysantenvariëteiten lopen zo sterk uiteen, dat een algemene beschrijving van het ziektebeeld niet te geven is. Vele chrysantenvariëteiten vertoonden ziekteverschijnselen, die karakteristiek lijken voor die bepaalde variëteit of voor een beperkt aantal variëteiten.

Wij zullen daarom hieronder slechts het ziektebeeld van 8 chrysantenvariëteiten beschrijven en bij de beschrijving eventueel vermelden, welke variëteiten een soortgelijk ziektebeeld vertonen. Van ieder van deze 8 variëteiten werden verscheidene planten (zieke en gezonde) tijdens hun groei bestudeerd, terwijl door sapinoculaties op toetsplanten werd nagegaan, welke viren in de planten aanwezig waren.

Wanneer reeds in de „gezonde” planten *virus b* werd aangetroffen, is het waarschijnlijk dat in zieke planten met *Cucumis virus 1 st. Chr.* dit *virus b* ook aanwezig was (aantoning hiervan bleek niet mogelijk, zie III A). Het kan dus zijn dat het beschreven ziektebeeld door het complex van *Cucumis virus 1 st. Chr.* en *virus b* veroorzaakt werd, terwijl *Cucumis virus 1 st. Chr.* alleen zich in de plant anders zou uiten.

1. *Crimson Crown*. Tijdens de groei zijn in het algemeen geen ziekteverschijnselen aanwezig; bij uitzondering is slechts een onduidelijk mozaïek op de bladeren waar te nemen. De lintbloemen, normaal rood, (R. d. C.*) 165⁴, purpergranaatkleur) worden zeer opvallend geelgestreept of geheel geel (H.C.C.**)²¹⁻², kanariegeel), fig. 1 en 2.

*) Répertoire de Couleurs publié par la Société Française des chrysanthémistes et R. OBERTHÜR, 1905.

**) Horticultural Colour Chart. R. F. WILSON, 1938, 1941.

In de 4 zieke planten werd *Cucumis virus 1 st. Chr.* gevonden, in de 2 normaal uitziende planten *virus b*.

2. *Deuil de Louis Barthou*. Het blad is onregelmatig bobbelig en vertoont een mozaïek van geelgroen, groen, soms een groen dat donkerder is dan normaal, en geel. Slechts hier en daar zijn scherp begrensde vlekken zichtbaar. De bloem is meest klein, terwijl de linten verfrommeld zijn, fig. 6. Het roodachtig violet van de bloem is wit gestreept.

Bij de planten met normale bloem is op het blad in geringe mate een mozaïek van geelgroen en groen te zien. In alle 5 zieke planten werd *Cucumis virus 1 st. Chr.* gevonden, in alle normaal uitziende planten *virus b*.

3. *Miss Wilcox*. Onder goede groeiomstandigheden zijn op de bladeren meestal geen ziekteverschijnselen waar te nemen. Indien deze wel aanwezig zijn, zijn zij het duidelijkst aan de 5 of 6 jongste bladeren te zien, die dan een geringe bobbeling vertonen; zij hebben een oneffen groene kleur door vaag-begrensde geelgroene vlekken. Bij het ouder worden van de bladeren verdwijnen de verschijnselen door het optreden van de donkergroene bladkleur. De normaal roodbruine (R.d.C. 331⁴⁻², terracotta) bloemen (Fig. 7) worden min of meer geel (H.C.C. 4⁴, citroengeel) gestreept (Fig. 8), terwijl de het sterkst door virus aangetaste planten met geheel gele bloemen (Fig. 9) in de handel zijn als de variëteit: „Gele Miss Wilcox”. De Gele Miss Wilcox blijft iets lager dan de roodbruine. Bij onderzoek werd in alle planten, in die met gestreepte bloemen (5 planten), in die van de vorm Gele Miss Wilcox (2 planten) en in die met normaal uitziende roodbruine bloemen (5 planten), *virus b* gevonden. *Cucumis virus 1 st. Chr.* bleek niet aanwezig te zijn.

Bij vegetatieve vermeerdering ontstaan uit iedere vorm weer planten met een zelfde bloemkleur; dus een rode plant levert steeds weer een vorm met rode bloemen, een gestreepte steeds weer gestreepte, de gele steeds weer gele. Uit sapinoculaties onderling (zie p. 171) werd waarschijnlijk dat de viren van de 3 verschillende kleurvormen tegen elkaar beschermen. Deze gegevens pleiten ervoor dat de planten met rode, gestreepte en gele bloemen zijn aangetast door stammen van hetzelfde virus, die virulenter zijn naarmate de aangetaste planten meer geel in de bloemen vertonen. Een aantal verschijnselen wijzen erop dat, al blijven de rode, gestreepte en gele vormen constant in de nakomelingschap, de verschillen tussen deze 3 vormen toch niet zo essentieel zijn als op het eerste gezicht lijkt:

- a. De ongelijke lengte en het in de lengte samengerold zijn van de lintbloemen, kenmerken van een virusaantasting, komen ook bij de normale bloemen voor, ook al zijn deze verschijnselen bij gestreepte en gele bloemen duidelijker.
- b. Hoewel steeds gesproken werd over 3 kleurvormen, verschillen de rode bloemen toch ook onderling in kleur. De ene plant heeft donkerder bloemen dan de andere. De binnenste linten van normale bloemen, vooral van die bloemen welke zich het laatst openen, kunnen geel gestreept zijn. De bloemkleur bleek sterk beïnvloed te worden door de temperatuur. Planten gekweekt bij temperaturen met maxima van ongeveer 25 °C, vertoonden bleker bloemkleur en meer geelstreping dan planten gekweekt bij temperaturen met maxima beneden 15 °C. De Gele Miss Wilcox was bij de temp. beneden 15 °C opvallend

roodbruin gestreept, terwijl 3 van de 5 normale planten bij temperaturen omstreeks 25 °C duidelijk geelgestreepte linten hadden.

- c. Er is een duidelijk waarneembare afneming van bloemgrootte en hoogte der plant, naarmate de bloemen geler zijn. Toch zijn de planten met rode bloemen onderling ook ongelijk van hoogte en soms zelfs lager dan planten met gestreepte bloemen.

4. *Pink Long Island Beauty*. De enige ziekteverschijnselen die opvallen, zijn de geremde groei en de iets bleker rose bloemen. In geen der 4 onderzochte planten werd *Cucumis virus 1 st. Chr.* of *virus b* gevonden. De groeiremming en de in de jongste bladeren soms zichtbare geelgroene stipjes (Fig. 16) komen overeen met de verschijnselen welke voor stunt in de literatuur (zie p. 129) zijn vermeld.

Met de op p. 178 beschreven methode kon in 2 planten met deze ziekteverschijnselen inderdaad het *stuntvirus* worden aangetoond, terwijl 1 plant zonder verschijnselen vrij bleek te zijn van het *stuntvirus*.

5. *Prélude*. Alle planten vertonen eenzelfde bobbeling en een min of meer vlekkerig-groene kleur van het blad. Het is moeilijk te zeggen, of deze bladverschijnselen aan virusaantasting te wijten zijn, daar ze in alle planten in even sterke mate optreden.

De als normaal beschouwde bronskleurige bloem wordt bij aantasting geelgestreept of grotendeels geel. De planten met afwijkende bloem zijn meestal iets lager dan normaal.

In alle 12 planten met geelgestreepte bloemen werd *Cucumis virus 1 st. Chr.* gevonden. In 6 planten met effen bronskleurige bloem werd *virus b* gevonden, evenals in 2 planten met een geringe gele bloemstreping.

6. *Red Rolinda*. De jongste bladeren vertonen geen ziekteverschijnselen of zijn iets oneffen groen van kleur. Op oudere bladeren is min of meer duidelijk te zien dat de nerven, ook de fijnste, groen blijven, maar dat het bladmoes tussen de nerfjes geelgroen of geel is geworden. Over deze geelgroene tot gele vlekjes ligt soms een bruin waas, of er is een bruin stipje in de vlekjes te zien. (Fig. 11)

De normaal rode (R.d.C. 165¹⁻², purpergranaatkleur) bloemkleur is bij de zieke planten bleker (R.d.C. 99², drakenbloedrood), en meestal geel gestreept (R.d.C. 22², boterbloemgeel of H.C.C. 4¹, citroengeel).

In 15 planten met bleke en geel gestreepte bloem werd *Cucumis virus 1 st. Chr.* gevonden, in 1 *virus b*. In 4 planten met normale bloemkleur werd *virus b* gevonden, in 10 kon geen virus worden aangetoond.

Een soortgelijk virus-beeld als op de bladeren van Red Rolinda werd aange troffen, vonden wij ook bij Am. Schlager, Enchantress en Good News.

7. *Royal Bronze*. In het ernstigste geval worden zieke planten niet hoger dan de helft van de normale. De bladeren zijn dan klein en sterk bobbelig, terwijl de zijnerven van de 1e, 2e en 3e orde als richels enigszins boven het bladoppervlak uitsteken. De bobbeling gaat meestal gepaard met een meer of minder sterke asymmetrie en misvorming van het blad. De topbladeren zijn bleekgroen met geel gevlekt of geheel geel, zonder dat scherp begrensde vlekken voorkomen. Op jongere en oudere bladeren ontstaan ook wel rode vlekken. (Fig. 15)

Bij een aantal planten ziet men van bovengenoemde verschijnselen weinig. Een geringe bobbeling, iets bleker groene topbladeren en een weinig opvallend mozaïek van groen en lichtgroen zijn dan de enige ziekteverschijnselen op de bladeren.

Zijn de verschijnselen in de bladeren niet steeds opvallend, aan de bloemverschijnselen is bijna altijd met zekerheid uit te maken, of de plant ziek is of niet (Fig. 12 en 13). In het ernstigste geval ontwikkelt de plant slechts enkele knoppen, die bloemen geven met sterk verfrommelde linten, welke inplaats van roodbruin (R.d.C. 100⁴, steenrood), grotendeels geel (H.C.C. 2¹, kanariegeel) zijn. In minder ernstige gevallen is de bloem slechts iets onregelmatig, maar vooral de binnenste linten en de laatste bloemen zijn dan geel gestreept.

Merkwaardig is dat naast de normale roodbruine kleur ook donkerder rode vlekken voorkomen (R.d.C. 114⁴ karmozijnrood of 165², purpergranaatkleur).

In alle onderzochte planten met geelgestreepte bloemen, 16 in getal, werd *Cucumis virus 1 st. Chr.* gevonden, in alle onderzochte planten met normale bloem, 8 in getal, *virus b*. Verder werden nog 12 niet bloeiende planten onderzocht. Hiervan bleken slechts 2 geen van beide viren te bevatten. Deze 2 planten toonden geen ziekteverschijnselen. Van de 38 onderzochte planten waren er dus slechts 2, waarbij geen viren konden worden geconstateerd.

8. *Smiles*. In geen andere variëteit werden zulke opvallende scherp begrensde geelgroene, later gele tot witte vlekken, banden en ringen gevonden als bij *Smiles* (Fig. 4). Soms zijn de vlekken wat minder opvallend, wel geel, maar meer streepvormig, terwijl ze naar de bladrand in duidelijkheid en aantal toenemen (Fig. 3). Dit laatste beeld doet enigszins denken aan een voedingsziekte, bijvoorbeeld aan mangaangebrek. De bloemlinten hebben als hoofdkleur donkerrose (R.d.C. 189¹⁻², bisschopviolet), maar zijn ten dele nog donkerder (R.d.C. 180⁴, roodachtigviolet), en geelachtig (R.d.C. 12⁴, amberwit) gevlekt. Bij de binnenste linten en de laatste bloemen is deze gevlektheid het duidelijkst.

In alle 15 onderzochte planten werd *Cucumis virus 1 st. Chr.* gevonden.

Bij Sweetheart werden op de bladeren ziekteverschijnselen waargenomen, die veel overeenkomst vertoonden met die welke wij bij *Smiles* beschreven hebben.

C. OPSOMMING VAN DE ONDERZOCHE CHRYSENTENVARIËTEITEN, INGEDEELD NAAR HET VIRUS DAT ERIN WERD AANGETROFFEN

Na deze uitvoerige beschrijving van ziekteverschijnselen, volgt een overzicht van de chrysantenvariëteiten waarin *Cucumis virus 1 st. Chr.* en die waarin *virus b* werd aangetroffen, met een vermelding of, en zo ja welke afwijkingen in blad of bloem of in beide geconstateerd werden. Het zal opvallen dat een bepaalde variëteit bij virusaantasting de ene keer verschijnselen in de bladeren liet zien, een andere keer weer niet; het betreft hier altijd variëteiten bij welke de waargenomen verschijnselen vrij onduidelijk zijn, zodat de grens tussen wel- en niet verschijnselen moeilijk is vast te stellen.

1. *Cucumis virus 1 st. Chr.* werd uitsluitend aangetroffen in chrysanten bij welke steeds ziekteverschijnselen konden worden waargenomen. Het kwam echter wel vaak voor, dat van een plant de eerste bloem er gezond uitzag, maar pas de volgende bloemen duidelijk afwijkend waren. Bij de binnenste lintbloemen waren de ziekteverschijnselen ook altijd duidelijker dan bij de buitenste.

Een lijst van chrysantenvariëteiten, waarin *Cucumis virus 1 st. Chr.* werd aangetroffen volgt hier, gesplitst in 3 groepen:

- a. *Afwijkingen zowel in blad als bloem*: August Pink, Balcombe Glory, Blanche du Poitou, Blanche Poitevine, Carefree, Corona, Crimson Crown (1 plant), Deuil de Louis Barthou, Exmouth Pink, Golden Mary Elisabeth, Little America, Mayford Pink, Miss Helen Frick, Monument, Novemberzon, Perfection, Pink Ideal, Prélude, Rayonnante, Red Mary Elisabeth, Red Matador, Red Rolinda, Rose Chocod, Royal Bronze, Ruby, Sartre, September Bronze, Smiles, Sweetheart, Tempest, Typhoon, Yellow Corona, Yellow Utopia.
- b. *Alleen afwijkingen in de bloem, niet in het blad*: Aalsmeers Glorie, Arnhem, Crimson Crown, Duke of Kent, Elegance, Imperial Yellow, Perfection, Prélude, Say Edgar, William Meadows.
- c. *Ziekteverschijnselen in de bladeren* (of de bloemen van deze planten ook verschijnselen vertoonden, bleef onzeker, daar deze niet bekeken konden worden): Adama, Blazing Gold, Bronze Frieda, Bronze Ideal, Chas. E. Morris, Lady Electra, Lord Somers, Louis Germ, Mayford Orange, Mrs. L. Humphrey (Joseph), Orchid Beauty, Rogli, Smits Superlative, Source d'Or, Susy, Yellow Long Island Beauty.

2. *Virus b* werd zowel in chrysanten mét (a, b, c) als zonder (d) ziekteverschijnselen gevonden, hetgeen blijkt uit de lijst, gesplitst in 4 groepen, die hieronder volgt:

- a. *Afwijkingen in blad en bloem*: Am. Schlager, Bronze Adonis, Good News, Little America, Mason's Red, Mayford Orange, Miss Wilcox, Mont Blanc, Orange Torch, Samaria, Shirley Ivory.
- b. *Alleen afwijkingen in de bloem, niet in het blad*: Balcombe Perfection, Bronze Delight, Desert Song, Mason's Red, Miss Wilcox, Orchid Beauty.
- c. *Alleen afwijkingen in het blad, niet in de bloem*: Balcombe Glory, Deuil de Louis Barthou, Friendly Rival, Lady Electra, Prélude, Red Rolinda. Bij Chas. E. Morris, Enchantress, Francis Hutchinson, Lord Somers, Précose, Source d'Or konden de bloemen niet onderzocht worden.
- d. *Geen ziekteverschijnselen vertoonden*: Crimson Crown, Desert Song, Deuil de Louis Barthou, Duke of Kent, Elegance, Miss Wilcox, Perfection, Prélude, Royal Bronze, William Meadows. Merkwaardig is wel dat Desert Song en Miss Wilcox soms geen, soms zeer opvallende gele strepen in de bloemen vertoonden, terwijl de planten met de ongestreepte zowel als de gestreepte bloemen *virus b* bleken te bevatten. Bij de beschrijving van Miss Wilcox is hierover reeds meer gezegd (p. 134).

Bij vergelijking van de lijsten van onderzochte chrysantenvariëteiten valt op dat planten met *Cucumis virus 1 st. Chr.* ernstige ziekteverschijnselen konden vertonen, terwijl de planten van dezelfde variëteit met *virus b* er gezond uitzagen. Dit was het geval bij Crimson Crown, Deuil de Louis Barthou, Prélude en Royal Bronze, en kwam wellicht nog bij andere variëteiten voor, van welke echter te weinig planten onderzocht werden om bovenstaande conclusie te kunnen trekken.

D. OPSOMMING VAN DE ONDERZOCHE CHRYSAANTENVARIËTEITEN,
INGEDEELD NAAR DE MEEST OPVALLENDE VIRUSVERSCHEIJNSELEN

Van een aantal typische ziekteverschijnselen wordt hier tenslotte aangegeven bij welke chrysaantenvariëteiten deze werden opgemerkt, terwijl achter iedere variëteit tussen haakjes wordt vermeld of *Cucumis virus I st. Chr.* (afgekort Cu.), *virus b* (afgekort b) of *stuntvirus* (afgekort St.) werd aangetroffen, of dat de ziekteoorzaak onbekend bleef, wat met een ? is aangeduid.

1. *Groeiremming*. Groeiremming treedt meestal op bij viruszieke chrysaanten, maar soms slechts in geringe mate. Zeer duidelijk was de groeiremming bij August Pink (Cu.), Clara Holford (St.), Edw. Seidewitz (Cu.), Francis Hutchinson (b), Friendly Rival (b en ?), Indianapolis White (St.), Indianapolis Yellow (St.), Miss Helen Frick (?), Mrs. L. Humphrey (Cu.), Novemberzon (Cu.) Orchid Beauty (b), Pink Long Island Beauty (St.), Roselind (?), Royal Bronze (Cu.), Rose Frieda (b), Smits Superlative (Cu.), Snowfall (Cu.), Snowwhite (b), Tempest (Cu.), The Titan (?), White America (b), White Valencia (?), Yellow Nevada (?).

Het valt op, dat een groot aantal van de onderzochte planten geen *Cucumis virus I st. Chr.* of *virus b* bleken te bevatten. Groeiremming alleen is een onbetrouwbaar kenmerk, doordat ook voedingsfouten en b.v. vaatziekten een remming van de groei kunnen veroorzaken. Het is evenwel waarschijnlijk dat in een aantal van deze nog onvoldoende onderzochte gevallen de groeiremming door *stuntvirus* is veroorzaakt (zie p. 177).

2. *Afwijkingen in bladkleur*

a. Bepaalde chrysaanten kunnen een zeer duidelijk *mozaïek* van normale en lichtgroene vlekken vertonen: Carefree (Cu.), Mayford Orange (Cu.), Royal Bronze (Cu.), Samaria (b), Sartre (Cu.), Smiles (Cu.), Yellow Cleone (Cu.), Yellow Utopia (Cu.).

b. Een *kringvormige tekening* op de bladeren komt min of meer duidelijk bij vele chrysaanten voor. Duidelijke kringen werden waargenomen bij Dorothy Jackson (b), Enchantress (b), Exmouth Pink (Cu., b), Mont Blanc (b ?), Perfection (Cu.), Samaria (b), Shirley Ivory (b), Smiles (Cu., fig. 4), Source d'Or (b, soms + Cu., fig. 10), Sweetheart (Cu.), Tempest (Cu.).

Minder duidelijk waren ook kringen te zien bij Aanwinst (b ?), Carefree (Cu.), Red Rolinda (Cu.) en Say Edgar (Cu.).

c. *Necrose* in de vorm van stipjes komt voor bij Am. Schlager (b), Enchantress (b), Good News (b), Novemberzon (Cu.), Red Rolinda (Cu., fig. 11).

d. *Necrotische kringen* vertoonden Exmouth Pink (Cu., b) en Mayford Pink (Cu., b, fig. 14). Een geringe *nerfnecrose* werd alleen bij Mayford Orange (Cu., b) waargenomen.

3. *Bladmisvorming*. Sterke bladmisvorming kwam voor bij Mayford Orange (Cu., b), Pink Ideal (Cu.) en Royal Bronze (Cu.). Zwakke bladmisvorming, die zich soms alleen uitte in een asymmetrie van het blad, kwam bij meer chrysaanten voor, o.a. bij Mrs. L. Humphrey (Cu.) en Yellow Utopia (Cu.).

4. *Afwijkingen in bloemkleur*.

a. Bij chrysaanten met rode, bronskleurige en bruine bloemen worden de bloemen van viruszieke planten geheel of ten dele geel: Aalsmeers Glorie (Cu.),

Aanwinst (b?), Amber Bright (Cu., b), Am. Schlager (b), Arnhem (Cu.), Balcombe Perfection (b?), Bronze Adonis (b), Bronze Delight (b), Bronze Ideal (Cu.), Carefree (Cu.), Corona (Cu.), Crimson Crown (Cu., fig. 2), Desert Song (b), Hurricane (b?), Mason's Red (b), Mayford Triumph (?), Miss Wilcox (b, fig. 8 en 9), Prélude (Cu.), Red Mary Elisabeth (Cu., b), Red Matador (Cu.), Red Rolinda (Cu.), Royal Bronze (Cu., fig. 12), Sartre (Cu.), September Bronze (Cu.), Tempest (Cu.), Typhoon (Cu.), William Meadows (Cu., b).

- b. Bij chrysanten met paarsrode, lichtrode en rose bloemen zijn de bloemen na aantasting wit gevlekt of geheel wit: August Pink (Cu.), Deuil de Louis Barthou (Cu.), Elegance (Cu.), Enchantress (b), Exmouth Pink (Cu.), Madame J. Gieuliles (?), Miss Helen Frick (Cu.), Pink Ideal (Cu.), Rose Chocod (Cu.), Ruby (Cu., fig. 18 en 19), Say Edgar (Cu.). Soms loopt de kleurechter terug naar bleekgeel: Mayford Pink (Cu.), Samaria (b en ?), Smiles (Cu.), Sweetheart (Cu.).
- c. Bij chrysanten met witte bloemen zijn geen, met gele bloemen zelden verkleuringen te zien. Gele bloemen krijgen soms lichter gele of bijna witte vlekken: Monument (Cu. en ?).

5. *Afwijkingen in vorm en lengte van de lintbloemen.* Bij viruszieke planten zijn de linten dikwijls ongelijk van lengte, bobbelig en verfrommeld. Vertonen de chrysanten geen afwijkingen in bloemkleur, dan zijn de verschijnselen aan de linten (naast groeiremming en afwijkingen in het blad) het beste symptoom van virusziekte.

Deze afwijking in de linten werd waargenomen bij: Balcombe Glory (Cu.), Blanche du Poitou (Cu.), Blanche Poitevine (Cu.), Deuil de Louis Barthou (Cu., fig. 6), Duke of Kent (Cu.), Golden Mary Elisabeth (Cu.), Good News (Cu.) Imperial Yellow (Cu.), Little America (Cu.), Gele Miss Wilcox (b, fig. 9), Mont Blanc (b), Perfection (Cu.), Rayonnante (Cu.), Shirley Ivory (b), Snowfall, (Cu.), Source d'Or (Cu.), Sweetheart (Cu.), Tempest (Cu.) en Typhoon (Cu.).

Stellen wij tenslotte de vraag of het mogelijk is, op grond van de ziekteverschijnselen bij een chrysant, te zeggen door welk virus de plant is aangetast, dan is op deze vraag geen algemeen antwoord te geven, wat uit een paar voorbeelden zal blijken.

De bloemstreping, die in de literatuur (SELMAN, 1940; BEWLEY & RICHARDS, 1951) aan een stam van *Cucumis virus I* wordt toegeschreven, blijkt in ons onderzoek niet tot dit virus beperkt te zijn; necrose in de literatuur opgegeven als een soms optredend kenmerk van *Lycopersicum virus 3* (zie literatuuroverzicht p. 127) vonden wij ook bij chrysanten, in welke *Cucumis virus I st. Chr.* of *virus b* aanwezig bleek te zijn.

Op grond van het feit, dat vele chrysantenvariëteiten, bij aanwezigheid van een bepaald virus (*Cucumis virus I st. Chr.* of *virus b*), een voor iedere variëteit karakteristiek ziektebeeld vertoonden, lijkt het ons toch dikwijls wel mogelijk aan de hand van de verschijnselen bij de plant tot aanwezigheid van hetzij *Cucumis virus I st. Chr.* hetzij *virus b* te besluiten.

Uit de literatuur blijkt dit voor enkele chrysantenvariëteiten met *stunt virus* ook het geval te zijn; diagnosemethoden voor stunt berusten hier dan ook op. (Zie literatuuroverzicht, p. 129 e.v.).

IV. CUCUMIS VIRUS 1 VAN CHRYSANT

A. SAPINOCULATIE MET CUCUMIS VIRUS 1 ST. CHR. OP TOETSPANTEN

Nadat gebleken was dat met sap van bepaalde chrysanten onder andere op tabak mozaïekverschijnselen teweeggebracht konden worden, is nagegaan of dit chrysantenvirus ook op andere plantensoorten een reactie gaf. Aan de ene kant met het doel om meer plantensoorten te vinden die geschikt als toetsplant gebruikt konden worden, aan de andere kant om met de reactie op deze andere plantensoorten te kunnen komen tot identificatie van de viren.

Jonge exemplaren van in totaal 35 plantensoorten werden geïnoculeerd met sap van tabak, die met chrysantensap was geïnoculeerd en ziekteverschijnselen vertoonde van *Cucumis virus 1 st. Chr.* De sapinoculaties werden verricht op dezelfde wijze als beschreven is op p. 132. Wij laten hier een beschrijving volgen van de ziektesymptomen, die door *Cucumis virus 1 st. Chr.* bij 17 van de 35 geïnoculeerde plantensoorten werden veroorzaakt, terwijl tenslotte een opsomming volgt van de plantensoorten, bij welke geen of een onduidelijke reactie werd waargenomen. De met een * aangeduide toetsplanten, nl. *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana glutinosa* en *Petunia hybrida nana compacta* Celestial, bleken tenslotte het meest geschikt voor de aantoning van *Cucumis virus 1 st. Chr.* (zie p. 144).

Antirrhinum maximum album

Vier van de 5 planten vertoonden op de geïnoculeerde bladeren na 3 weken 1 of 2 ringen om een centrale stip. De ringen werden gevormd door lichtbruine stipjes.

In de niet-geïnoculeerde *Antirrhinum*-bladeren werd bij sapinoculatie van deze op tabak geen *Cucumis virus 1 st. Chr.* gevonden; het virus heeft zich dus in zijn uitbreiding, blijkbaar tot de geïnoculeerde bladeren beperkt.

Callistephus sinensis, Dwerg Allerheiligen

Na 4 weken vertoonden alle 5 geïnoculeerde planten op de niet-geïnoculeerde topbladeren een mozaïek van licht en normaal groen, dus spreidsymptomen. De bloemkleur was bleker lila, de linten waren sterker verfrommeld dan normaal. Sapinoculatie van de topbladeren op tabak gaf weer *Cucumis virus 1 st. Chr.*-reactie.

Chrysanthemum indicum, zie p. 44.

Cucumis sativus

Van de in totaal 75 geïnoculeerde planten, reageerden slechts 15 planten met een zwakke locale reactie op de zaadlobben, bestaande uit gele vlekjes van 1 mm diam., gepaard gaande met enige bobbeling. Merkwaardigerwijs waren deze 15 planten alle op dezelfde datum geïnoculeerd, hoewel niet alle met sap van dezelfde plant. Inoculatie met sap van niet-geïnoculeerde bladeren gaf nooit reactie op tabak.

Datura stramonium

Op de geïnoculeerde bladeren ontstonden bij 11 van 42 planten na 12 tot 14 dagen vaagbegrensde geelgroene vlekken.

Na 2 weken werden spreidsymptomen zichtbaar, donkerder opgebolde plekken. Dit verschijnsel trad steeds weer op in later uitgroeiende bladeren en ging dikwijls gepaard met bladversmalling, tot draadvorming toe. Vaak was de bloemkroon gespleten in slippen, die evenals de meeldraden verwrongen uitgroeiden.

Helianthus annuus

Bij 1 van 4 geïnoculeerde planten werd mozaïek als spreidsymptoom waargenomen. Inoculatie van deze plant op *Nicotiana glutinosa* gaf een reactie van *Cucumis virus 1 st. Chr.*

Helichrysum bracteatum monstrosum fl. pl., gemengd

Slechts zelden was bij de 20 reagerende planten, (40 waren geïnoculeerd), op de geïnoculeerde bladeren een reactie zichtbaar, als een vlekkerige vergeling na 3 tot 4 weken. Spreidsymptomen verschenen na 4 tot 8 weken, als een mozaïek van scherp begrensde, geelgroene, gele, normaal groene en soms donkerder groene vlekken. De bladeren waren bovendien soms bobbelig of min of meer misvormd en verwrongen. Ook de bloemen waren vlekkelig. Inoculatie met sap gaf op tabak en *Petunia* een reactie van *Cucumis virus 1 st. Chr.*

* *Nicotiana glutinosa*

Op grond van talloze proeven wordt hier de reactie beschreven van *Cucumis virus 1 st. Chr.* op *N. glutinosa*.

De geïnoculeerde bladeren sterven na 2 weken af, terwijl vooral bij inoculatie van zeer jonge plantjes een necrose van de stengel en een afsterven van de gehele plant volgen kan.

Op de niet-geïnoculeerde, nieuw uitgroeiende topbladeren, is na 1 week een lichte begrenzing van de nerven waar te nemen; nog enkele dagen later is een mozaïek van licht- en normaalgroen te zien of het gehele blad is bleekgroen met enkele donkerder groene, opgebolde vlekken. Bij de planten, die in leven blijven, groeit de top langzaam door en vormt na 10, soms reeds na 5 weken bladeren met een sterk gereduceerde, vooral versmalde bladschijf. De bladschijfhelften kunnen zeer ongelijk zijn, met een onregelmatige rand. De reductie van de bladschijf kan zo ver gaan, dat alleen de hoofdnerf nog aanwezig is. De bladschijf-reductie lijkt sprekend op die welke bij *Petunia* door *Cucumis virus 1 st. Chr.* wordt veroorzaakt (verg. fig. 26 met 24). De bloemen zijn enigszins bobbelig of gespleten. Inoculatie op toetsplanten gaf weer een reactie van *Cucumis virus 1 st. Chr.*

Nicotiana paniculata

De meeste van 35 op dezelfde datum geïnoculeerde planten, met sap afkomstig van verschillende chrysantenvariëteiten, vertoonden op de geïnoculeerde bladeren min of meer duidelijk gele of bruine necrotische vlekken, na 2 tot 4 weken.

Tegelijkertijd was op de niet geïnoculeerde bladeren een lichte begrenzing van de nerven te zien, die gevolgd werd door een vrij onduidelijk mozaïek.

Nicotiana rustica

De meeste van 35 op dezelfde datum geïnoculeerde planten met sap afkomstig van verschillende chrysantenvariëteiten, vertoonden op de niet-geïnoculeerde bladeren na 3 weken een onduidelijk mozaïek, en soms ringen. Na 4 weken gingen de geïnoculeerde bladeren afsterven, waarna vervolgens necrose van de stengel kon optreden.

Nicotiana glauca

In twee inoculatie-series, ieder van een andere datum (in totaal 50 planten) waren op de geïnoculeerde bladeren, na bijna 3 weken, geelgroene vlekjes te zien van ongeveer 2 mm diam., die enkele dagen later een iets bruinere tint kregen. Een enkele maal werd een necrotische ring zichtbaar van 2 mm diam., terwijl hierbinnen soms een necrotisch stipje te zien was, of weer een necrotisch ringetje. Deze necrotische ringen namen 4 tot 6 weken na de inoculatie nog steeds in aantal toe, werden duidelijker en waren dikwijls concentrisch.

Op de niet-geïnoculeerde bladeren werden soms, na ongeveer 4 weken, geelgroene ronde vlekken zichtbaar.

* *Nicotiana tabacum* „White Burley”

Naar ziektesymptomen, waargenomen in talloze proeven, worden hier de verschijnselen bij tabak beschreven.

Op de geïnoculeerde bladeren is, na ongeveer 1 week, een geringe bobbeling te zien. Bij het naderhand afsterven van deze bladeren, worden soms gele, min of meer ringvormige vlekken zichtbaar. Op het eerste uitgroeiende, niet geïnoculeerde blad, is na 7 tot 10 dagen aan de bladvoet een geringe bobbeling te zien, die gepaard gaat met een lichter groene kleur langs de nerven. Het volgende uitgroeiende blad vertoont over het gehele oppervlak een zwakke bobbeling, de bladranden zijn naar beneden toe omgebogen, de nerven zijn lichtgroen begrensd en hier en daar zijn geelgroene vlekken zichtbaar. Bij het ouder worden spreidt de bladschijf zich meer uit en valt het op, dat de bladrand onregelmatig is, wat het blad min of meer asymmetrisch maakt. Zeer karakteristiek zijn ronde, geelgroene, vaagbegrensde vlekken of ringen, ongeveer 1 cm in diam., die zich in een klein aantal op het blad vertonen, dat verder een mozaïek laat zien van donkerder, normaal, en lichter groen en groengeel (Fig. 22).

Een enkele maal werd een enigszins afwijkende reactie waargenomen. Zo trad in een bepaald geval sterke groeiremming op, gepaard gaande met sterke misvorming en necrose der bladeren. Ook zagen wij bij inoculatie met sap van enkele chrysanten dat een deel der tabaksplanten een sterke bladversmalling liet zien, met omkrullen van de bladranden naar boven toe, en uitgroeiingen op de onderzijde der bladeren. Tenslotte zij nog vermeld dat soms op één of twee der eerste bladeren met spreidsymptomen een doolhofachtig patroon kan voorkomen, bestaande uit groene en groengele concentrische ringen en zigzaglijnen.

Inoculatie op tabak en andere toetsplanten gaf de reactie van *Cucumis virus 1 st. Chr.*

* *Petunia hybrida nana compacta*

Ook deze beschrijving der ziektesymptomen berust op waarnemingen uit talloze proeven. Op de geïnoculeerde bladeren ontstaan, na 6 tot 10 dagen, grijze vlekken van 1–1½ mm diam., die soms echter een diameter van 2–3 mm krijgen en dan ringvormig zijn met een groen centrum. Langzamerhand sterven deze bladeren af, hetgeen in uitzonderingsgevallen stengelnecrose ten gevolge heeft. Op de nieuw uitgroeiende bladeren is na 7 tot 10 dagen een lichte begrenzing van de nerven te zien en later een mozaïek van groene, opgebolde vlekken op een verder lichtgroen of licht vaalgroen gekleurd blad. Na 5 weken treedt reductie van de bladschijf op, zodat soms alleen de hoofdnerf over blijft (Fig. 24). Halverwege de bladschijf springt de hoofdnerf soms, als een draadvormig aanhangsel uit het blad. Het blad kan ook ten dele trompetvormig zijn.

De bloemkroon is dikwijls in een aantal slippen gespleten, die trechtervormig kunnen zijn (Fig. 25). Vaak komen uitgroeiingen op de bloemkroon voor.

Een moeilijkheid bij de beoordeling van ziekteverschijnselen bij *Petunia* wordt veroorzaakt door de grote verschillen die de van nature reeds min of meer bobbelige of vlekkerig groene bladeren vertonen. In een proef, waarbij de reactie op *Petunia* „gemengd” vergeleken werd met die op enkele kleurvormen uit het mengsel – nl. op Sneeuwbal, Celestial en Raadsheer –, gaf Celestial nog de duidelijkste symptomen.

Inoculatie op *Petunia* en andere toetsplanten gaf weer een reactie van *Cucumis virus 1 st. Chr.*

Primula obconica

Op de niet-geïnoculeerde bladeren werd na 3 tot 4 weken een mozaïek zichtbaar van vaag begrensde normaal groene en geelgroene vlekken, gepaard gaande met een sterkere bobbeling van het blad dan normaal. De bloemen waren klein en wit gevlekt.

Inoculatie op toetsplanten gaf weer een reactie van *Cucumis virus 1 st. Chr.*

Senecio cruentus (syn. *Cineraria cruenta*) *grandiflora*

In 3 inoculatie-series met in totaal 20 planten, vertoonde slechts één plant op de geïnoculeerde bladeren, na 2 maanden bij het vergelen, een groene zigzagtekening die de nerven volgde. Inoculatie op tabak gaf een reactie van *Cucumis virus 1 st. Chr.*

Solanum Lycopersicum

Een maand na inoculatie waren de 5 geïnoculeerde planten achter in groei en werd een mozaïek in de topbladeren zichtbaar van licht en normaal groen. De blaadjes waren ook bobbelig en iets misvormd, maar bladversmalling werd niet waargenomen. Inoculatie op toetsplanten gaf *Cucumis virus 1 st. Chr.*-reactie.

Tropaeolum majus nanum „Empress of India”

Bij alle 4 planten van één serie vertoonden de geïnoculeerde bladeren na 12 dagen necrotische kringen van ½–1 mm diam. Naderhand werden bruine concentrische ringen zichtbaar, terwijl het tussenliggende weefsel, met gele en oranje kleuren ging afsterven en ook nerfnecrose optrad. Maanden later ver-

schenen op de niet-geïnoculeerde bladeren paarsbruine, grillig gevormde lijnen en kringen met tussenliggend geel of ten dele nog groen weefsel.

Inoculatie van bladeren met spreidsymptomen gaf op tabak *Cucumis virus 1 st. Chr.*-reactie.

Zinnia elegans dahliiflora

Bij 16 van 25 planten ontstond op de niet-geïnoculeerde bladeren na 3 tot 5 weken een mozaïek van licht en normaal groen. De bloemlinten van een oranje bloem vertoonden rode en enkele gele streepvormige vlekken.

Inoculatie op tabak gaf *Cucumis virus 1 st. Chr.*-reactie.

Een enkele inoculatie op 5 planten van *Adonis aestivalis*, *Ageratum mexicanum*, *Calendula officinalis*, *Calliopsis lanceolata*, *Chrysanthemum carinatum*, *C. leucanthemum*, *C. segetum*, *Dianthus barbatus*, *Doronicum caucasicum*, *Gaillardia grandiflora*, *Gerbera jamesonii*, *Iberis coronata*, *Matricaria eximia*, *Papaver nudicaule*, *Phaseolus vulgaris*, *Solanum capsicastrum* en *Tagetes patula* gaf geen of een zeer twijfelachtige reactie. Wij volstaan dan ook met deze vermelding.

Wat de geschiktheid betreft om als toetsplant van *Cucumis virus 1* te dienen is het duidelijk (p. 141 e.v.) dat *Nicotiana tabacum*, *N. glutinosa* en *Petunia hybrida* hiervoor het meest in aanmerking komen. *N. tabacum* geeft een zeer duidelijke, snelle reactie, maar heeft het bezwaar dat het ziektebeeld met dat van tabaksmozaïek verward kan worden. Het gebruik van *N. glutinosa* als toetsplant naast *N. tabacum* is daarom vaak gewenst. *Petunia hybr. nana compacta* „Celestial” is als toetsplant zeer geschikt, maar geeft door zijn onregelmatige bladvorm en bladkleur moeilijkheden bij het herkennen van de symptomen van *Cucumis virus 1*, vooral als deze zeer zwak optreden.

Bij vergelijking van de verschijnselen op toetsplanten, die hier beschreven zijn, met wat uit de literatuur hierover bekend is, valt direct de grote overeenkomst op met het ziektebeeld dat door AINSWORTH en SMITH bij *Nicotiana glutinosa* is beschreven, AINSWORTH (1939), SMITH (1949; 1951, p. 16–17). Op *Cucumis sativus* werden door SMITH, evenals door mij, geen of hoogstens zwakke locale symptomen gevonden, SMITH (1949; 1951, p. 238).

Ook de verschijnselen van *Aspermy virus* op *Nicotiana glutinosa* en het wegblijven hiervan op *Cucumis sativus*, schijnen met die van het *Cucumis virus 1* van chrysant overeen te komen, BLENCOWE & CALDWELL (1946, 1949), BRIERLEY & SMITH (1951 b).

Alle toetsplanten, waarop het chrysantenvirus een reactie gaf, blijken (behalve misschien *Senecio cruentus*) ook in de literatuur vermeld te zijn als toetsplant of waardplant van *Cucumis virus 1*.

Bij enkele door mij onderzochte planten, zijn de ziekteverschijnselen echter enigszins verschillend van die welke in de literatuur zijn beschreven.

Behalve de reeds bovengenoemde afwijkende reactie van het chrysantenvirus op *Nicotiana glutinosa*, schijnt ook de door mij van *Petunia hybr.* beschreven bladversmalling (p. 143) van andere stammen van *Cucumis virus 1* niet bekend te zijn.

Sterk afwijkend is de reactie van het chrysantenvirus op *Cucumis sativus*; van lelies is echter eveneens een stam van *Cucumis virus 1* beschreven die, evenals

het chrysantenvirus, hoogstens een dergelijke locale reactie geeft, AINSWORTH (1938).

Enkele planten, nl. *Calendula*, *Phaseolus*, *Solanum capsicastrum*, en *Tagetes* gaven met het chrysantenvirus geen reactie, maar zijn in de literatuur wel als waardplanten van *Cucumis virus 1* vermeld; mogelijk dat bij herhaling der proeven wel verschijnselen zouden optreden.

Op grond van de op toetsplanten waargenomen verschijnselen, veroorzaakt door het chrysantenvirus, lijkt het ons, ondanks het feit dat de verschijnselen op enkele toetsplanten vrij sterk afwijken, toch wel waarschijnlijk dat dit virus een stam is van het *Cucumis virus 1*.

Het is daarom ook, mede door de ervaringen bij het premuniteitsonderzoek (p. 162), en de serologie (p. 156), dat het virus van het begin af aan reeds als een stam van het *Cucumis virus 1* is betiteld.

B. SAPINOCULATIES OP CHRYSANTHEMUM INDICUM

Terwijl nu de resultaten op de toetsplanten, de aanwezigheid (al dan niet tezamen) van 2 duidelijk verschillend reagerende viren in de zieke chrysanten aannemelijk maken, is vervolgens getracht met het perssap van de geïnoculeerde toetsplanten, kunstmatig gezonde chrysanten te infecteren en zodoende op deze de verschijnselen op te wekken, die bij de van nature zieke planten aanwezig waren.

Met toetsplanten, die verschijnselen van *Cucumis virus 1 st. Chr.* vertoonden, werden daarom sapinoculaties uitgevoerd op:

1. Zaailingen van *Chrysanthemum indicum*;
2. Jonge planten van bestaande variëteiten van *C. indicum*, die door stekken waren vermenigvuldigd.

Het voordeel van het gebruik van zaailingen is, dat deze waarschijnlijk virusvrij zijn, daar hierin nooit een virus kon worden aangetoond. Een groot nadeel is de grote variabiliteit in groei, bladvorm, bloenvorm, -kleur en -grootte.

Het voordeel van het gebruik van bestaande variëteiten is de gelijkvormigheid der planten, waardoor de geïnoculeerde planten met onbehandelde planten beter vergeleken kunnen worden. Een nadeel is, dat men, ook na voorafgaande inoculatie op toetsplanten, nooit geheel zeker is dat deze planten virusvrij zijn.

a. Sapinoculatie op zaailingen met Cucumis virus 1 st. Chr.

Opgepotte zaailingen van *Chrysanthemum indicum* „dubbele gemengd” werden 18-5-1951 en nog eens 15-6-1951 geïnoculeerd met sap van tabak met verschijnselen van *Cucumis virus 1 st. Chr.* (Zie methode, beschreven op p. 132). Niet geïnoculeerde zaailingen dienden als contrôle. De planten werden in pot tot de bloei verder gekweekt, in een kas die tegen insecten door zeer fijn bronsgaas afgesloten was. Geregeld werd met nicotine gerookt, wat echter niet geheel afdoende bleek te zijn. Daarom werd later het effectiever werkende blauwzuurgas gebruikt.

Gedurende de gehele groeiperiode werden geen virusziekteverschijnselen op de bladeren waargenomen.

Tijdens de bloei vertoonden 10 van de 24 met *Cucumis virus 1 st. Chr.* geïnoculeerde planten, bloemen met onregelmatige, gedraaide, vaak gestreepte

bloemlinten. Op tabak en *Petunia* gaven 5 van deze 10, en dus geen der andere 14 planten een reactie van *Cucumis virus 1 st. Chr.*

In de contrôlegroep waren 3 planten van de 24, die onregelmatigheden in de bloem vertoonden; één van deze bleek door *Cucumis virus 1 st. Chr.* aangetast te zijn, een andere plant gaf een twijfelachtige reactie van *Cucumis virus 1 st. Chr.* Het feit dat de bladluis-bestrijding in het begin niet afdoende was, kan het optreden van *Cucumis virus 1 st. Chr.* in de contrôlegroep verklaren.

Hoewel een scherpe conclusie uit deze proef niet mogelijk is, geeft deze proef wel enige aanwijzingen dat zowel een onregelmatige vorm van de bloem als een streping van de bloemkleur door *Cucumis virus 1 st. Chr.* veroorzaakt zouden kunnen worden.

b. Sapinoculatie op chrysantenvariëteiten met Cucumis virus 1 st. Chr.

In deze proef werd stek gebruikt van moerplanten, waarvan vooraf door sapinoculatie op toetsplanten was komen vast te staan, dat zij vrij waren van *Cucumis virus 1 st. Chr.* Bij dit toetsen der moerplanten, bleken echter alle planten van de 4 variëteiten die voor deze proef waren uitgekozen, op *Petunia* de reactie van *virus b* te geven. Ondanks dit bezwaar zijn de proeven met dit materiaal uitgevoerd, daar op korte termijn geen mogelijkheid bestond tot het vinden van geheel virusvrije planten.

Telkens 10 jonge chrysanten van de 4 variëteiten werden 7 Juni 1951 geïnoculeerd met sap van tabak met verschijnselen van *Cucumis virus 1 st. Chr.* Ter vergelijking dienden van iedere variëteit 5 onbehandelde planten en 5 planten die van nature reeds door *Cucumis virus st. Chr.* waren aangetast. Alle planten zijn in een kas, die met bronsgas voor insecten was afgesloten en die aanvankelijk geregeld met nicotine werd gerookt en later met blauwzuurgas werd gestast, verder gekweekt. Door het al te sterk terugsnijden van de planten tijdens de groei, uitgevoerd om de planten niet al te hoog te laten worden (in verband met de beschikbare ruimte) zijn er enkele dood gegaan, welke bij de resultaten zullen worden vermeld.

Voor een uitvoerige beschrijving van de ziekteverschijnselen bij deze variëteiten wordt verwezen naar p. 134 e.v..

Sapinoculatie op de variëteit Deuil de Louis Barthou

Noch in blad, noch in bloem (eind November) is enig verschil opgetreden tussen de contrôlegroep en de groep geïnoculeerd met *Cucumis virus 1 st. Chr.* In de van nature aangetaste planten waren 4 planten (één was dood) duidelijk ziek: de linten der bloemen waren verfrommeld en witgestreept. Bij sapinoculatie op tabak en *Petunia* vertoonden 3 van deze 4 planten *Cucumis virus 1 st. Chr.*-reactie, terwijl geen der andere planten uit de proef een virusreactie gegeven heeft op deze toetsplanten. Bij Deuil de Louis Barthou is het dus niet gelukt om planten door sapinoculatie ziek te maken.

Sapinoculatie op de variëteit Prélude

Tijdens de bloei in eind October, was de kleur der bloemen (ten gevolge van de vrij hoge kastemperatuur) over het geheel lichtbruin. In tegenstelling tot de bloemen van de onbehandelde groep, die effen van kleur waren, vertoonden 5 van de 10 met *Cucumis virus 1 st. Chr.* geïnoculeerde planten, bloemen die op

dezelfde wijze geelgestreept waren, als die in de van nature zieke groep. Twee van de 10 planten waren door hierboven reeds vermelde oorzaak vóór de bloei dood gegaan. Bij sapinoculatie op toetsplanten, bleken ook inderdaad alleen de 5 planten met gestreepte bloemen en de van nature zieke planten een reactie van *Cucumis virus 1 st. Chr.* te geven.

Bij *Prélude* is het dus gelukt, door inoculatie van sap afkomstig van een toetsplant met *Cucumis virus 1 st. Chr.*-verschijnselen, planten ziek te maken, zo dat deze planten dezelfde bloemafwijkingen vertoonden als de planten waarin van nature *Cucumis virus 1 st. Chr.* werd aangetroffen.

Sapinoculatie op de variëteit Miss Wilcox

Tussen de 5 onbehandelde planten en de 10 met *Cucumis virus 1 st. Chr.* geïnoculeerde planten was noch in blad, noch in bloem (eind November) enig verschil te constateren. Een groep van 5 van nature door *Cucumis virus 1 st. Chr.* aangetaste planten ontbrak, daar deze nog nooit aangetroffen waren (In van nature zieke planten werd altijd slechts *virus b* gevonden).

Ook bij sapinoculatie op toetsplanten, bleek geen enkele plant de reactie van *Cucumis virus 1 st. Chr.* te voorschijn te roepen.

Het is dus niet gelukt om bij *Miss Wilcox*, door inoculatie met sap van een toetsplant met *Cucumis virus 1 st. Chr.* ziekteverschijnselen op te wekken.

Sapinoculatie op de variëteit Royal Bronze

Van de 10 met *Cucumis virus 1 st. Chr.* geïnoculeerde planten, waarvan er 2 (door te sterk terugsnijden) vóór de bloei dood waren, vertoonden 5 planten, eind October, dezelfde sterke gele en rode streping als de 5 van nature zieke planten (fig. 12).

De geïnoculeerde planten vertoonden ook verfrommelde linten op dezelfde wijze als van nature zieke planten. Alle andere planten, ook van de onbehandelde groep, waren normaal effen roodbruin van kleur (Fig. 13). Na sapinoculatie op toetsplanten bleken ook inderdaad alle planten met gestreepte bloemen een reactie van *Cucumis virus 1 st. Chr.* te geven, terwijl geen van de andere planten dit deed.

Nog duidelijker dan bij *Prélude* bleek hier dat met *Cucumis virus 1 st. Chr.* geïnoculeerde planten dezelfde ziekteverschijnselen vertoonden als planten waarin van nature *Cucumis virus 1 st. Chr.* werd aangetroffen. (Fig. 23)

C. EIGENSCHAPPEN VAN CUCUMIS VIRUS 1 ST. CHR. IN PERSSAP

a. Verdunningsgrens

Zowel bij de zuivering van het virus, als bij de bepaling van de inactiverings-temperatuur en van de tijd gedurende welke het virus in perssap zijn infectievermogen behoudt, is het van belang, dat men enig inzicht heeft in de mate van besmettelijkheid van het virus.

Men vraagt zich dus af, bij welke verdunning het perssap van een viruszieke plant nog in staat is toetsplanten ziek te maken. De sterkste verdunning waarbij nog infectie mogelijk is, noemt men de *verdunningsgrens*. Uit de literatuur blijkt, dat deze grens vrij constant is voor een bepaald virus, in een bepaalde plantensoort, wanneer men tenminste werkt in een seizoen, dat gunstig is voor de ontwikkeling van de betreffende virusziekte. Deze betrekkelijke constantheid maakt

dat de verdunningsgrens soms een bruikbaar determinatiekenmerk der viren kan zijn.

In 5 proeven werd onderzocht tot hoever *Cucumis virus 1 st. Chr.*-houdend perssap verdund kan worden, dat het op toetsplanten nog een reactie geeft.

Proef 1 (8-12-'50)

Tabaksbladeren van planten, die $1\frac{1}{2}$ maand van tevoren met *Cucumis virus 1 st. Chr.* waren geïnoculeerd, werden fijn gemaakt in een mortier en uitgeknepen door mul. Het zo verkregen sap werd verdund met gedestilleerd water. Iedere verdunning werd geïnoculeerd op 10 planten van *Nicotiana tabacum* „White Burley”, die van tevoren met carborundumpoeder waren bestoven.

Uit deze proef, waarvan het resultaat in de bovenste regel van tabel 1 is samengevat, blijkt, dat na inoculatie met sap, dat zelfs tot 1 : 1.000.000 was verdund, nog één plant ziekteverschijnselen vertoonde.

TABEL 1. Aantal planten met positieve reactie na inoculatie met sap, in verschillende verdunningen, van *Nicotiana tabacum* besmet met *Cucumis virus 1 st. Chr.*
Number of plants with positive reaction after inoculation with sap, in different dilutions, from Nicotiana tabacum infected with Cucumis virus 1 st. Chr.

Proef Exper.	Datum Date	Toetsplant Indicator plant	Aantal Num- ber	Verdunning van perssap Dilution of sap						
				Onverdund Undiluted	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
1	8-12-'50	<i>Nicotiana tabacum</i>	10	10	10	10	9	6	2	1
2	10-11-'51	<i>Nicotiana tabacum</i>	5	5	5	5	5	5	5	—
3	21- 4-'52	<i>Nicotiana tabacum</i>	5	5	4	2	1	1	0	—
4	3- 5-'52	<i>Nicotiana tabacum</i>	5	5	5	5	3	0	0	—
5	4- 1-'51	<i>Petunia hybrida</i>	10	10	10	10	2	0	0	0

De proeven 2 (10-11-'51), 3 (21-4-'52) en 4 (3-5-'52), zijn uitgevoerd met sap van tabak met *Cucumis virus 1 st. Chr.* op de boven beschreven wijze, met dit verschil, dat 5 in plaats van 10 toetsplanten werden geïnoculeerd. In proef 3 waren de tabaksbladeren met het virus vóór het uitpersen bevroren. De resultaten van deze proeven zijn weergegeven in tabel 1.

Overzien we het resultaat van deze 4 proeven, dan blijkt het perssap bij een verdunning van 10^{-3} altijd nog min of meer een reactie op toetsplanten te geven. Bij *Nicotiana tabacum* als toetsplant blijkt de verdunningsgrens in 2 van de 4 proeven een veel lagere waarde te bezitten, n.l. beneden 10^{-5} . In de andere 2 proeven ligt de grens omstreeks 10^{-3} tot 10^{-4} .

Wij wijzen er op, dat de eerste 2 proeven in de winter zijn genomen, proef 3 en 4 daarentegen in April en Mei. Het is zeer waarschijnlijk dat seizoensfactoren op het resultaat van deze proeven hun invloed deden gelden. Terwijl verschillende auteurs deze invloed van het jaargetijde reeds constateerden (BAWDEN 1950 p. 29 e.v.) is ook mij herhaaldelijk gebleken dat het infectievermogen van het virus in de voorjaars- en zomermaanden sterk is gedaald, waardoor het werken met het virus in deze maanden zeer wordt bemoeilijkt.

Of hier de virus-concentratie van de planten, waaruit het sap geperst wordt, dan wel de vatbaarheid der toetsplanten met het jaargetijde verandert, is nog een open vraag.

Proef 5 (4-1-'51)

Uittabaksbladeren van planten, die $1\frac{1}{2}$ maand tevoren met *Cucumis virus 1 st. Chr.* waren geïnoculeerd, werd, zoals in proef 1 is beschreven, sap geperst. Het verdunde sap werd geïnoculeerd op telkens 10 planten van *Petunia hybr. nana compacta* „Celestial”, die van tevoren met carborundumpoeder waren bestoven.

Eveneens op de boven beschreven wijze werd perssap van een chrysant, die *Cucumis virus 1 st. Chr.* bevatte, op *Petunia*-planten geïnoculeerd.

De resultaten van het eerste deel van deze proef zijn samengevat in tabel 1, terwijl die van de gehele proef nog eens in tabel 2 zijn weergegeven.

TABEL 2. Reactie van *Petunia* op *Cucumis virus 1 st. Chr.* in verschillende verdunningen, bepaald aan de hand van het aantal locale vlekken (kol. 3) en van spreidsymptomen (kol. 4)

Reaction of sap containing Cucumis virus 1 st. Chr. in different dilutions, determined from the number of local lesions (col. 3) and of systemic infection (col. 4) on Petunia

Herkomst <i>Cucumis virus</i> 1 st. Chr. <i>Source Cucumis virus 1 st. Chr.</i>	Verdunning ¹⁾ <i>Dilution</i> ¹⁾	Aantal vlekken op <i>Petunia</i> - toetsplant No. <i>Number of lesions on Petunia- indicator plant No.</i>											Aantal planten met spreid- symptomen (van 10) <i>Number of plants (out of 10), systemic infection</i>
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1-10	
<i>Nicotiana tabacum</i>	onverdund <i>undiluted</i>	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞ ²⁾	10
„ „	10 ⁻¹	25	14	7	18	5	30	5	0	7	7	118	10
„ „	10 ⁻²	6	5	2	1	9	1	5	4	2	2	37	10
„ „	10 ⁻³	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	2	2
<i>Chrysanthemum indicum</i>	onverdund <i>undiluted</i>	0	5	0	15	7	5	3	1	8	7	51	10
„ „	10 ⁻¹	0	0	3	2	2	4	1	4	5	7	28	9
„ „	10 ⁻³	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	5
„ „	10 ⁻²	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

¹⁾ Verdunningen van 10⁻⁴, 10⁻⁵ en 10⁻⁶ waren zonder reactie en zijn in de tabel weggelaten. *Dilutions 10⁻⁴, 10⁻⁵ and 10⁻⁶ gave no reaction and are omitted in table 2.*

²⁾ ∞: vlekken op de bladeren zo talrijk, dat deze niet afzonderlijk te tellen waren.
∞: *lesions too numerous, to be countable.*

Zie voor de reactie van *Cucumis virus 1 st. Chr.* op *Petunia* p. 143.

In tabel 2 is het aantal vlekken, dat iedere plant op de geïnoculeerde bladeren vertoonde, aangegeven in kolom 3, terwijl in kolom 4 is aangegeven het aantal planten dat spreidsymptomen vertoonde.

In deze proef blijkt *Cucumis virus 1 st. Chr.* bij geen sterkere verdunning dan van 10⁻³ verschijnselen op de toetsplanten te geven.

Het chrysantensap laat een minder sterke verdunning toe dan het tabakssap:

1. Met tabakssap vertonen meer *Petunia*-planten spreidsymptomen dan met chrysantensap.
2. Het aantal vlekken op de bladeren na inoculatie met tabakssap bij verdunningen van 10⁻² en 10⁻³ komt ongeveer overeen met dat van chrysantensap bij verdunningen van respectievelijk 10⁻¹ en 10⁻².

In proef 5 blijkt perssap met *Cucumis virus 1 st. Chr.* minder sterk verdund

te kunnen worden dan in proef 1 en 2, die in hetzelfde jaargetijde werden genomen. Mogelijk is *Petunia* een minder vatbare toetsplant dan *Nicotiana tabacum*, wat wij bij talrijke inoculaties reeds meenden op te merken; een proef waarbij deze twee toetsplanten onder geheel gelijke proefomstandigheden met elkaar worden vergeleken, ontbreekt echter.

b. Inactiveringstemperatuur

Proef 6 (10-2-'51). Tabaksbladeren, die ongeveer 1½ maand na inoculatie duidelijk de verschijnselen van *Cucumis virus 1 st. Chr.* vertoonden, werden fijn gemaakt in een mortier, door mul geperst en verdeeld over 9 buisjes die tot aan de inoculatie op de toetsplanten in ijs werden bewaard. De buisjes werden in een waterbad gedurende 10 minuten verhit, respectievelijk tot 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85 en 90 °C, waarna ze weer onmiddellijk in ijs gezet werden. Vervolgens werden de sapmonsters geïnoculeerd op telkens 5 planten *Nicotiana tabacum* „White Burley”. Uit het resultaat van deze proef, die samengevat is in tabel 3, blijkt dat dit sap een verhitting tot 65 °C verdraagt, tot 70 °C echter niet meer.

TABEL 3. *Cucumis virus 1 st. Chr.* Inactiveringstemperatuur.
Thermal inactivation point.

	Temperatuur in °C					Temperature in °C				
	Onverhit <i>Untreated</i>	55	60	65	70	75	80	85	90	
Aantal planten (van 5) met symptomen <i>Number of Nicotiana tabacum-</i> <i>plants with symptoms (out of 5)</i>	5	5	5	4	0	0	0	0	0	

In een temperatuurstraject van 5 graden, tussen 65 en 70 °C, blijkt het virus dus zijn infectievermogen volledig verloren te hebben.

In de volgende proef (7) met *Petunia*, blijkt dat de inactivering door verhitten over een groter temperatuurstraject plaats vindt. Hier was het mogelijk, door het aantal grijze vlekken op de geïnoculeerde bladeren te tellen, de sterkte der aantasting te controleren.

Proef 7 (3-1-'51). Deze proef werd op dezelfde wijze uitgevoerd als de vorige. Het sap werd verhit tot 45, 50, 55, 60 en 65 °C, maar de sapinoculatie werd uitgevoerd op telkens 5 planten van *Petunia hybr. nana compacta* „Celestial” en op telkens 5 *Nicotiana glutinosa*-planten.

Van *N. glutinosa* werden alle planten ziek, behalve 4 van de 5 planten die geïnoculeerd waren met sap, verhit tot 65 °C.

Bij *Petunia* vertoonden alle geïnoculeerde planten naderhand *Cucumis virus 1 st. Chr.*-verschijnselen. Uit het aantal vlekken, die na 5 dagen op de geïnoculeerde bladeren geteld werden, (zie tabel 4) blijkt echter dat boven 50 °C reeds in belangrijke mate een afneming van de activiteit van het virus plaats vond.

In proef 8 (23-11-'49), waarbij het sap in de tijd die verliep tussen uitspersen en inoculeren (minstens 1 uur) niet in ijs was bewaard, bleek de inactiveringstemperatuur lager te liggen, en wel voor *Petunia* bij 40 °C en voor *N. glutinosa* bij 50 °C. Het sap is hier waarschijnlijk door het niet in ijs bewaren, nog enigszins verder geïnactiveerd (zie volgend hoofdstuk).

TABEL 4. Inactiveringstemperatuur van *Cucumis virus 1 st. Chr.*, bepaald aan de hand van locale reactie op *Petunia*
Thermal inactivation point of Cucumis virus 1 st. Chr., determined from the number of local lesions on Petunia

	Aantal vlekken per plant No. Number of lesions per plant No.					
	1	2	3	4	5	Totaal 1-5 Total 1-5
Onverhit (<i>Untreated</i>)	40	100	75	50	100	365
45 °C	30	100	40	100	100	370
50 °C	100	50	50	40	35	275
55 °C	11	1	10	6	24	52
60 °C	5	10	3	23	3	44
65 °C	1	7	0	8	5	21

Samenvattend kan gezegd worden dat het perssap van *Cucumis virus 1 st. Chr.*-bevattende planten van *Nicotiana tabacum* „White Burley”, bij 65 °C nog actief was, bij 70 °C echter niet meer. Bij *Nicotiana glutinosa* lag de inactiveringsgrens ook omstreeks 65 °C. Bij *Petunia* was door tellen van het aantal vlekken een activiteitsafnemng waar te nemen tussen 50 tot 65 °C.

Hoewel het resultaat in deze proeven vrij eenvormig is, zou het m.i. toch niet juist zijn een algemene conclusie ten opzichte van de inactiveringstemperatuur te trekken, aangezien verschillende factoren, als die van het jaargetijde, de toestand der geïnfecteerde plant, de toestand en leeftijd der plant, waarvan het sap genomen is, en de concentratie van het virus in het sap, een rol bij de bepaling kunnen spelen.

Een nauwkeurige bepaling van de inactiveringstemperatuur zou een uitgebreid onderzoek eisen, waarbij gestreefd zal moeten worden naar een constantheid in bovengenoemde factoren.

c. Inactivering tijdens het bewaren

Proef 9 (25-10-'50). Sap geperst uit bladeren van tabak, die na sapinoculatie verschijnselen van *Cucumis virus 1 st. Chr.* vertoonden, werd bewaard bij een temperatuur van 15 à 16°, met een schommeling van korte duur tussen 13 en 19 °C. Dit sap werd respectievelijk na 0, 4, 8, 28 en 48 uur geïnoculeerd op telkens 5 planten van *Nicotiana tabacum* „White Burley” en *N. glutinosa*.

Alle planten van *N. tabacum*, die na 0 en 4 uur waren geïnoculeerd, toonden ziekteverschijnselen; geen enkele plant echter van de andere groepen. Van *N. glutinosa* werden alleen 4 planten ziek, die na 0 uur, dus direct na het uitspersen waren geïnoculeerd.

In een volgende proef 10 (31-3-'52), waarbij telkens 5 planten van *Nicotiana glutinosa* en 5 planten van *N. tabacum* na 0, 2, 4, 8, 24 en 48 uur waren geïnoculeerd met sap van tabak met *Cucumis virus 1 st. Chr.* (bewaard bij 25 °C) zijn alleen 3 planten van *N. glutinosa* en 4 van *N. tabacum* ziek geworden, die na 0 uur waren geïnoculeerd.

In een derde proef 11 (3-5-'52) werd het perssap bewaard bij 23-25 °C en na respectievelijk 0, 2, 4, 6, 8 en 12 uur geïnoculeerd op telkens 5 planten van *N. tabacum* „White Burley”. Alle planten vertoonden naderhand *Cucumis virus 1 st. Chr.*-verschijnselen, behalve 1 plant na bewaren van het sap gedurende 8 uur, en 4 planten na 12 uur bewaren.

Wanneer we het resultaat van deze proeven overzien, blijkt het dat het virus in het perssap vrij snel zijn activiteit verliest; gezegd kan worden dat de langste bewaartijd (bij 23 tot 25°C), waarbij er nog van activiteit van het virus sprake was, 12 uur geweest is, terwijl in de andere proeven deze bewaartijd veel korter was en inlag tussen 4 en 0 uur.

De resultaten zijn hier allerminst eenvormig. Ook hier is een meer uitgebreid onderzoek zeker gewenst in de geest zoals onder de inactivering bij verhitten (p. 151) reeds is aangeduid, om inzicht te krijgen in de factoren, die invloed uitoefenen op de inactivering tijdens het bewaren.

Nabespreking

Over de eigenschappen in perssap van *Cucumis virus 1* bij chrysanten wordt in de literatuur niets vermeld, wel echter over die van het *Aspermy virus*, (zie p. 129), BLENCOWE & CALDWELL (1949), BRIERLEY & SMITH (1951).

De in de literatuur vermelde eigenschappen van perssap van *Cucumis virus 1* in andere gewassen komen vrij goed overeen met die welke in dit onderzoek van het chrysantenvirus zijn beschreven:

1. Vele onderzoekers vonden een verdunningsgrens beneden of tot 1:10.000, BHARGAVA (1951), CHAMBERLAIN (1939), DOOLITTLE (1920), HARTER (1938). POUND & WALKER (1948) vonden echter een verdunningsgrens van 1:100.000. De verdunningsgrens kan dus vrij sterk variëren zoals ook voor het chrysantenvirus gevonden werd (p. 148).
2. De inactivering bij verhitten vindt plaats tussen 50 en 70°C. NIENOW (1948) vond volledige inactivering bij 65-70°C, maar reeds een begin bij 50°C, zoals ook in dit onderzoek (p. 151) bij *Petunia* werd vastgesteld.
3. De tijd dat *Cucumis virus 1* in perssap bewaard kan worden, varieert in de literatuuropgaven meestal van 2 tot 10 dagen, o.a. CHAMBERLAIN (1939), HARTER (1938), FULTON (1950). Slechts KÖHLER (1935) en NIENOW (1948) vermelden inactivering in korter tijd dan 24 uur, wat meer met mijn ervaringen met het chrysantenvirus overeenkomt.

D. ZUIVERING VAN CUCUMIS VIRUS 1 VAN CHRYSANT

Om met behulp van de electronenmicroscopie inzicht te krijgen in de vorm der virusdeeltjes, is het van belang over zo zuiver mogelijk virus te kunnen beschikken.

De bij het volgende zuiveringsonderzoek gebezigde methode, ontleend aan die welke te Rothamsted (Engeland) in gebruik is, is beschreven door ALGERA, THUNG & v. D. WANT (1947). De methode is hieronder in het kort weergegeven, terwijl de details, die nog al eens wisselden, bij de afzonderlijke proeven zijn vermeld.

Bladeren van tabak met *Cucumis virus 1 st. Chr.* werden bevroren, daarna fijngemaakt in een mortier, en door kaasdoek of mul geperst, waarna het perssap, om overtollige celbestanddelen kwijt te raken, werd gecentrifugeerd. Nadat de bovenstaande vloeistof was afgegoten, werd hieraan per 100 cc 25 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ in kristalvorm toegevoegd en na 2 uur staan werd wederom kort gecentrifugeerd. Het precipitaat, dat nu het virus behoorde te bevatten, werd weer op-

genomen in een kleine hoeveelheid water, in cellophaan gebonden en gedialyseerd in stromend water gedurende 12 uur.

Om zekerheid te hebben dat het virus in het verloop van de zuivering nog aanwezig was, werden van tijd tot tijd inoculaties op toetsplanten verricht.

In proef 12 (5-9-'50) bleek, bij sapinoculatie op toetsplanten, het virus na 80 minuten centrifugeren bij 13.000 toeren per minuut reeds uit de bovenstaande vloeistof verdwenen te zijn.

In een volgende proef 13 (10-1-'51) werd daarom, door verschillende tijden te centrifugeren, getracht na te gaan wanneer het virus uit de bovenstaande vloeistof in het residu terecht zou komen. De bovenstaande vloeistof bleek hier echter, anders dan bij proef 12, na 10, 20, 40 en 80 minuten centrifugeren bij 13.000 toeren per min. nog steeds het virus te bevatten. In welke concentratie het virus telkens nog aanwezig was, is niet onderzocht.

In proef 14 (26-7-'51), waarbij ruw sap van tabak met *Cucumis virus 1 st. Chr.* in een vloeistoflaag van $\frac{1}{2}$ cm gedurende 75 minuten bij 3000 toeren per min. werd gecentrifugeerd, bleek zuivering met bovenvermelde methode mogelijk. Zowel de gezuiverde vloeistof als het ruwe sap, gaven, ook in een verdunning van 1:10, 1:100 en 1:1000, op *Nicotiana tabacum* als toetsplant een reactie van *Cucumis virus 1 st. Chr.*

Proef 15 (10-11-'51), een herhaling van proef 14, liet zien dat de gezuiverde vloeistof en het ruwe sap op telkens 5 planten *N. tabacum* als toetsplant, bij een verdunning tot zelfs 1:100.000, op alle planten nog verschijnselen gaven van *Cucumis virus 1 st. Chr.*

In proef 16 (21-4-'52) en 17 (3-5-'52), die geheel op dezelfde wijze werden uitgevoerd als proef 14 en 15, gaf de ongedialyseerde vloeistof, verdund tot 1:10 en 1:100, geen reactie op toetsplanten, hoewel het ongezuiverde perssap, in een verdunning van resp. 1:10.000 en 1:1000, nog wel een reactie gaf.

Het merkwaardige feit doet zich hier voor, dat het twee maal gelukte *Cucumis virus 1 st. Chr.* te zuiveren (proef 14 en 15), terwijl driemaal de zuivering mislukte (proef 12, 16 en 17), hoewel bij proef 16 en 17 dezelfde methode gebruikt werd als bij proef 14 en 15.

Bij 2 mislukte zuiveringen bleek het virus reeds na het eerste centrifugeren uit de vloeistof verdwenen te zijn. Het is mogelijk, dat het virus door een sterke binding aan celbestanddelen, als b.v. de chloroplasten, met deze bestanddelen in het residu terecht is gekomen. Ook zou het virus in een zó sterk geaggregeerde toestand in het sap aanwezig geweest kunnen zijn, dat het daardoor alleen al met de celbestanddelen afgecentrifugeerd werd. Van een geaggregeerd zijn van het virus geven de electronenfoto's duidelijk blijk, (zie fig. 27 en 28).

De vraag blijft bestaan waarom de zuivering in proef 14 en 15 dan wel gelukte. Indien de aggregatie van het virus of de binding aan celbestanddelen niet altijd even sterk is, welke factoren zouden dan hiervoor aansprakelijk kunnen zijn?

SILL, BURGER, STAHMAN & WALKER (1952) constateerden in hun onderzoek met *Cucumis virus 1* eveneens een verdwijnen van het virus in het residu bij lage centrifugesnelheden, waaruit ook zij tot een sterke aggregatie of een sterke gebondenheid aan celbestanddelen van het *Cucumis virus 1* besloten.

E. GEGEVENS VAN CUCUMIS VIRUS 1 ST. CHR. VERKREGEN MET
ELECTRONENMICROSCOPIE

De electronenmicroscop kan ons de vorm en grootte van virusdeeltjes leren kennen en zo belangrijke gegevens verschaffen voor de identificatie van viren. Om deze reden is het dan ook, dat pogingen zijn gedaan om met behulp van de electronenmicroscop een beeld te krijgen van het *Cucumis virus 1 st. Chr.* Hierbij werd hulp verleend door Dr A. C. VAN DORSTEN ¹⁾, van het Wetenschappelijk Laboratorium der Philips Fabrieken te Eindhoven, L. H. BRETSCHNEIDER ¹⁾ van het Zoölogisch Laboratorium te Utrecht, en Mej. Dr C. VAN DER SCHEER ¹⁾ van het Laboratorium voor Natuur- en Weerkunde te Wageningen.

De preparaten die met de electronenmicroscop werden onderzocht, waren op de volgende wijze gemaakt: Met een entnaald met oogje werd een druppel van de te onderzoeken vloeistof op het membraan van de preparaathouder gebracht. De druppel werd na enkele minuten grotendeels afgezogen met filterpapier. Na drogen aan de lucht gedurende een dag, zijn de preparaten ter contrastvorming met een laagje palladium of goud bedekt, volgens de techniek van het „shadow-casten”. Vervolgens werden de preparaten met de electronenmicroscop onderzocht.

De virushoudende vloeistof, die op het membraan van de preparaathouder was aangebracht, werd door toepassing van één van de drie volgende methoden verkregen:

1. Sap uit zieke bladeren geperst, werd gedeeltelijk gezuiverd op een wijze die beschreven is op p. 152. Na het zuiveren werd de vloeistof verdund tot 1:10, 1:100 en 1:1000, en in deze toestand overgebracht op de preparaathouders.
2. Sap uit zieke bladeren geperst, werd, al of niet na voorafgaand bevroren, gecentrifugeerd tot een heldere vloeistof, verdund tot 1:10, 1:100, en 1:1000 en in deze toestand op de preparaathouders overgebracht.
3. Afgesneden takken of bladeren van zieke planten werden met stengel of bladsteel bevestigd in een doorboorde kurk, die in de hals van een afzuig-erlenmeyer werd vastgebonden. Op de afzuig-erlenmeyer werd de waterleiding aangesloten. Onder invloed van de druk van het water werden de bladeren stijf en wanneer de rand van een blad werd afgesneden, kwamen uit de nerfjes heldere vloeistofdruppels te voorschijn. Deze druppels werden op de preparaathouders gebracht. De methode is reeds beschreven en toegepast door JOHNSON (o.a. 1951) en in een enigszins andere vorm door THUNG (1948). Van 5 van de 25 preparaten, die volgens de 3 beschreven methoden van besmet sap waren gemaakt, zijn in totaal 6 foto's vervaardigd. Zowel in sap van zieke tabak als in sap van zieke chrysanten werden steeds enigszins bolvormige deeltjes van uiteenlopende grootte gevonden. De kleinste deeltjes hadden een afmeting van 20–25 μ . Daarnaast echter waren er deeltjes zichtbaar met een doorsnee van 25–75 μ (Fig. 27), en meer onregelmatig gevormde, afgeplatte deeltjes van 100–150 μ (Fig. 28). De meeste deeltjes, maar vooral die van 100–150 μ , maakten de indruk aggregaten te zijn van kleinere. Hoewel de deeltjes van de bovengenoemde 3 groepen van afme-

¹⁾ Dr A. C. VAN DORSTEN, den Heer L. H. BRETSCHNEIDER, mej. Dr C. v. D. SCHEER en de leiding van de betreffende laboratoria wordt dank betuigd voor de hulp die de schrijver mocht ontvangen.

tingen het meest opvallend voorkwamen, waren in de preparaten toch alle maten van 20–150 μ waar te nemen.

Ook in de preparaten van sap van gezonde planten werden altijd wel min of meer bolvormige deeltjes aangetroffen, maar steeds in zeer gering aantal en nooit met grote afmetingen. De grootste diameter die wij vonden was 75 μ .

Hoewel men verwachten zou dat in de gedeeltelijk gezuiverde preparaten (21-4-'52), die met de eerste methode waren gemaakt, de virusdeeltjes opvallender en, in verhouding, in groter aantal zichtbaar zouden zijn dan in de preparaten die volgens de 2 andere methoden waren vervaardigd, bleek dit toch niet het geval te zijn. In een aantal preparaten waren weinig, in andere in het geheel geen deeltjes te vinden, welke als het virus beschouwd zouden kunnen worden. Inoculatie op toetsplanten van het gezuiverde sap, dat voor het maken der preparaten werd gebruikt, bewees, door het wegblijven van een reactie, dat het virus in geen of slechts zeer geringe hoeveelheid in het sap aanwezig moet zijn geweest. Misschien is ook hier, zoals bij de volgende methode het geval bleek te zijn, het virus bij het centrifugeren voor een groot deel uit de vloeistof verdwenen.

In de preparaten die volgens de tweede methode van gecentrifugeerd sap werden gemaakt (25-1-'52 en 6-8-'52), waren naast veel verontreinigingen, de reeds genoemde bolvormige deeltjes in ongeveer dezelfde hoeveelheid zichtbaar als in de preparaten vervaardigd volgens de eerste methode. Bij gelijktijdige inoculatie (6-8-'52) op toetsplanten van het ongecentrifugeerde perssap en van de bovenstaande vloeistof na centrifugeren, beide in verdunningen van 1:10, 1:100, 1:1000 en 1:10.000, bleek het ongecentrifugeerde perssap bij een verdunning van 1:1000 nog een reactie te geven, terwijl de gecentrifugeerde vloeistof slechts in een verdunning van 1:10 nog verschijnselen gaf. Het ligt voor de hand aan te nemen dat het virus bij het centrifugeren grotendeels uit de bovenstaande vloeistof is verdwenen en in het residu is terecht gekomen.

Veel minder verontreinigingen werden aangetroffen in de preparaten die volgens methode 3 waren vervaardigd (6-8-'52). Ook hier waren bolvormige deeltjes aanwezig, zij het gering in aantal. Na inoculatie van enkele druppels vocht, zoals die voor het maken der preparaten werden gebruikt, ontstonden op toetsplanten geen ziekteverschijnselen. Het virus kan dan ook in de preparaten hoogstens in zeer geringe hoeveelheid aanwezig geweest zijn.

Soortgelijke bolvormige deeltjes, met een diameter van 75–125 μ , vonden ook DE BRUYN OUBOTER, BEIJER & VAN SLOGTEREN (1951) in sap van tabaksplanten geïnoculeerd met het *Cucumis virus 1 st. Chr.*, dat door mij aan hen werd verstrekt.

Ook SILL, BURGER, STAHMANN & WALKER (1952) vonden voor het *Cucumis virus 1* ronde deeltjes, met een diameter van ongeveer 35 μ .

BAWDEN & NIXON (1951) daarentegen, menen dat het beeld van *Cucumis virus 1* staafvormig is. Zij publiceerden hun waarneming echter onder enige reserve. JOHNSON (1951) slaagde er niet in deeltjes van *Cucumis virus 1* te vinden.

Het is zeer wel mogelijk dat de min of meer bolvormige deeltjes, die in bijna alle preparaten werden aangetroffen het *Cucumis virus 1 st. Chr.* voorstellen. De sterke aggregatie, die in de electronenfoto's valt waar te nemen, doet vermoeden dat de oorzaak van het verdwijnen van het virus bij het centrifugeren, in dit

aggregeren is gelegen (zie p. 153 en 155). Voortgezet onderzoek is gewenst om van een en ander meer zekerheid te verkrijgen.

F. SEROLOGIE VAN CUCUMIS VIRUS 1 ST. CHR.

Daar het aantonen van de aanwezigheid van *Cucumis virus 1 st. Chr.* in chrysantenplanten door middel van sapinoculaties op toetsplanten een tijdrovende en veel kasruimte vergende methode is, zou het van groot belang zijn indien het virus serologisch aangetoond kon worden.

Bovendien zou, indien een antiserum bereid kon worden, behalve door het premuniteitsonderzoek, ook serologisch een eventuele verwantschap met andere, reeds bekende stammen van het *Cucumis virus 1* aangetoond kunnen worden.

Een beschrijving van het verrichte serologisch onderzoek met de resultaten volgt hieronder.

VAN DER WANT te Wageningen heeft, door inspuiting van konijnen met *Cucumis virus 1 st. Chr.*-houdend plantensap, een antiserum bereid op een wijze als door hem en BEEMSTER in 1951 werd beschreven: BEEMSTER & VAN DER WANT (1951). Voor de inspuitingen werd gebruik gemaakt van tabaksplanten (*Nicotiana tabacum* „White Burley”), die ongeveer 1½ maand te voren waren geïnoculeerd met sap dat *Cucumis virus 1 st. Chr.* bevatte.

Met dit antiserum nu is getracht het *Cucumis virus 1 st. Chr.* in zieke planten aan te tonen, met behulp van de 2 bekende reacties: de „precipitatie”- en de „agglutinatië”-reactie. De micromethoden, die hierbij werden toegepast en hieronder worden beschreven, komen overeen met die welke werden gevolgd door BOOIJ, DE BRUYN OUBOTER, CREMER & VAN SLOGTEREN (1944):

Alvorens de reactie uit te voeren, werd ter verzaadiging, d.w.z. om het serum van ongewenste antilichamen te ontdoen, ruw perssap van gezonde tabaksbladeren gemengd met het serum. Na 2 uur bij 37°C te hebben gestaan, werd het mengsel tot de volgende dag bij 0°C bewaard en vervolgens afgecentrifugeerd, waarna het gereed was om gebruikt te worden voor de reacties.

Een druppel antiserum werd op een dekglasje samengebracht met een druppel sap. Het dekglasje werd omgekeerd en bevestigd op een met kranenvet ingesmeerd ringetje, dat op een objectglas was gekit. Het geheel werd bij 37°C gezet en in de hangende druppel kon de reactie plaats vinden.

Bij de precipitatiereactie was het sap van te voren gecentrifugeerd, terwijl bij de agglutinatiereactie het ruwe ongecentrifugeerde perssap werd gebruikt.

Na 10 tot 60 minuten werden de druppels bekeken met behulp van een prepareermicroscop onder een 30-malige vergroting en een donkerveld-belichting met een sterke lichtbundel onder een hoek van 90°.

Verdere details in de methodiek worden bij de bespreking van de resultaten vermeld.

Resultaten met de precipitatie-reactie

Zowel met sap van tabak als van chrysant met *Cucumis virus 1 st. Chr.* werd een duidelijke precipitatiereactie verkregen.

Wij laten een beschrijving van een proef met chrysantensap volgen:

Proef 18 (29-6-'50).

Een deel antiserum en 1 deel normaalserum (dus van een niet ingespoten konijn),

waren een dag vóór het uitvoeren van de reactie vermengd met 1, 3 en 7 delen gezond tabakssap en behandeld zoals hierboven beschreven.

De volgende dag werden de te onderzoeken chrysantenbladeren gedurende 2 uur bevroren bij -10°C , in een mortier fijngemaakt, en door mul gezeefd, waarna het verkregen sap 60 minuten werd gecentrifugeerd bij 3000 toeren per minuut. Hierna werd antiserum en normaal serum met het chrysantensap samengebracht volgens het onderstaande schema (tabel 5). Na een half uur staan bij 37°C , werd het resultaat beoordeeld, zie tabel 5.

TABEL 5. Positieve (+) of negatieve (-) reactie van verzadigd antiserum van *Cucumis virus 1* st. Chr. met chrysantensap (met en zonder *Cucumis virus 1* st. Chr.), in verschillende verdunningen met aq.dest.

Positive (+) or negative (-) reaction of saturated antiserum of Cucumis virus 1 st. Chr. with sap of chrysanthemum infected with Cucumis virus 1 st. Chr. and with sap of healthy plants, in different dilutions with aq. dest.

	Verzadigd met gezond tabakssap <i>Saturated with healthy sap of tobacco</i>	Gezond			Healthy			Ziek			Diseased			NaCl 0.9% <i>NaCl 0.9%</i>
		On-verd. <i>Undil.</i>	1 + 1	1 + 3	1 + 7	On-verd. <i>Undil.</i>	1 + 1	1 + 3	1 + 7					
NaCl 0,9% <i>NaCl 0,9%</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Normaal serum 1dl. <i>Normal serum 1p.</i>	1dl. 1p.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	3dl. 3p.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	7dl. 7p.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Anti serum 1dl. <i>Anti serum 1p.</i>	1dl. 1p.	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	
	3dl. 3p.	—	—	—	—	++	++	++	++	++	++	—	—	
	7dl. 7p.	—	—	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	

Het blijkt dus dat verzadigd antiserum met ziek chrysantensap een duidelijke precipitatie kan geven, zelfs nog (maar dan in mindere mate), wanneer het sap $8 \times$ verdund is. In de contrôle's (normaalserum en NaCl 0,9% met gezond en ziek sap, en antiserum met gezond sap), werden geen vlokkingen waargenomen.

In vele andere proeven werden deze resultaten bevestigd.

De ervaringen met het antiserum waren als volgt:

1. Verzadigd antiserum 1 : 1 gaf, met gezond sap samengebracht, een enkele maal vlokkingen, terwijl bij verzadigingen van 1 : 3 en 1 : 7 de vlokkingen steeds achterwege bleven. Wij concluderen hieruit dat bij een verzadiging van 1 : 1 niet steeds alle antilichamen uit het antiserum verdwenen zijn en dus een sterkere verzadiging nodig is om zeker te kunnen zijn van de resultaten.
2. Een verdunning van 32 maal van het verzadigde antiserum, samengebracht met ziek chrysantensap, liet meestal nog een waarneembare reactie zien.
3. Het onverzadigde antiserum gaf met sap van gezonde bladeren, zoals te verwachten was, steeds duidelijke vlokkingen. Het onverzadigde antiserum, 4 maal verdund, liet ook nog vlokking zien, een verdunning van 8 maal echter niet meer. Met ziek sap daarentegen gaf het onverzadigde antiserum in een verdunning van 32 maal nog een duidelijke reactie. In een verdunning van 160 maal werd zelfs nog een vlokking waargenomen, zij het minder duidelijk.

Niet altijd wilde het uitvoeren der precipitatiereactie gelukken. Door het nog

al eens optreden van spontane vlokkingen n.l., die speciaal bij sap van chrysanten voorkwamen, ontstond een vertroebeling van het sap, waardoor een eventuele precipitatiereactie niet meer was te onderkennen.

De spontane vlokkingen bleken in belangrijke mate te worden tegengegaan, door de bladeren vóór het uitpersen, of het sap ná het uitpersen te bevriezen en daarna het sap in een vloeistofkolom van hoogstens 10 mm hoogte gedurende langere tijd (75 minuten) te centrifugeren bij 3000 toeren per minuut (het maximum toerental van de beschikbare centrifuge). Geheel achterwege bleven de spontane vlokkingen nog niet en bovendien bleek de precipitatiereactie door de lange duur van het centrifugeren minder sterk te worden en soms zelfs geheel te verdwijnen. Een mogelijke verklaring hiervoor, zoals reeds bij de zuivering en de electronenmicroscopie werd gegeven, is dat het virus tijdens het centrifugeren voor een belangrijk deel sedimenteert.

Door aan het te centrifugeren sap KCN toe te voegen (enkele druppels KCN 1:10.000 voldeed het beste), bleek soms een kortere tijd centrifugeren voldoende om de spontane vlokkingen tegen te gaan, maar ook hier werd de precipitatiereactie weer minder duidelijk.

Door toevoegen vóór het centrifugeren van Calciumsulfaatpoeder of Natriumsulfietoplossing in verschillende concentraties, werd geen verbetering van de precipitatiereactie verkregen; evenmin was dit het geval wanneer het sap vóór het centrifugeren 2 minuten werd verhit tot 50 of 60°C.

Sap van de gele stam No 6 van PRICE van *Cucumis virus 1*, samengebracht met het antiserum van *Cucumis virus 1 st. Chr.* heeft ook na herhaalde pogingen, geen precipitatiereactie gegeven.

Sap met *Cucumis virus 1* van augurk daarentegen reageerde wel, hoewel niet zeer duidelijk, met het antiserum van *Cucumis virus 1 st. Chr.*

Resultaten met de agglutinatiereactie

Het heeft enige moeite gekost voor het uitvoeren van de agglutinatie-reactie een goede methode te vinden. Op de volgende wijze zijn tenslotte in een aantal proeven goede resultaten bereikt:

Gewerkt werd met bladeren van planten van *Nicotiana tabacum* White Burley, die 14 dagen van tevoren met *Cucumis virus 1 st. Chr.* waren geïnoculeerd en duidelijk ziekteverschijnselen vertoonden.

Deze bladeren werden fijngemaakt en uitgeperst door mul, waarna het verkregen sap in een vloeistofkolom van 2 cm hoog gedurende 1 of 2 minuten werd gecentrifugeerd bij 1700 toeren per minuut. Door dit centrifugeren werden slechts weinig chloroplasten neergeslagen, maar wel het meeste zetmeel, waardoor de reactie veel beter was waar te nemen.

De verzadiging van het antiserum geschiedde op een wijze zoals bij de precipitatiereactie op p. 156 werd vermeld.

Het plaatsen van de celletjes met druppels bij 37°C werd achterwege gelaten, daar na 15–30 minuten reeds bij kamertemperatuur een duidelijke reactie was waar te nemen. Tabel 6 (proef 19) geeft de resultaten van een op deze wijze uitgevoerde reactie weer.

Tabakssap met *Cucumis virus 1 st. Chr.* gaf met antiserum tot $\frac{1}{8}$ verdund een zeer duidelijke agglutinatiereactie, terwijl zelfs bij een antiserum verdunning van 1:256 nog een duidelijke agglutinatie was waar te nemen. In een andere proef agglutineerde ziek sap zelfs nog bij een antiserum verdunning van 1:512.

TABEL 6. Agglutinatie-reactie bij 20 °C van sap van *Nicotiana tabacum* met *Cucumis virus 1 st. Chr.* + verzadigd antiserum. Waarneming na $\frac{1}{2}$ uur
 ++ is zeer duidelijke, + duidelijke, 1 vrijwel geen, – geen agglutinatie
Agglutination test at 20 °C with sap of Nicotiana tabacum containing Cucumis virus 1 st. Chr. + saturated antiserum. Observation after $\frac{1}{2}$ hour
 ++ very distinct, + distinct, 1 virtually no agglutination, – no agglutination

	Antiserum verduunning <i>Antiserum dilution</i>	Tabakssap gezond 1 : 3 <i>Sap of healthy tobacco 1 : 3</i>	Tabakssap ziek 1 : 3 <i>Sap of diseased tobacco 1 : 3</i>
Aq.dest.		–	–
NaCl 0,9%		–	–
Norm. Ser. 1 dl. verz. met 7 dl. sap van tab. gezond		–	–
Antiserum 1 dl. verz. met 7 dl. sap van tab. gezond	1/8	1	++
„ 1 dl. verz. met 7 dl. sap van tab. gezond			
+ 1 dl. aq.dest.	1/16	1	++
„ 1 dl. verz. met 7 dl. sap van tab. gezond			
+ 3 dl. aq.dest.	1/32	1	+
„ 1 dl. verz. met 7 dl. sap van tab. gezond			
+ 7 dl. aq.dest.	1/64	–	+
„ 1 dl. verz. met 7 dl. sap van tab. gezond			
+ 15 dl. aq.dest.	1/128	–	+
„ 1 dl. verz. met 7 dl. sap van tab. gezond			
+ 31 dl. aq.dest.	1/256	–	+
„ 1 dl. verz. met 7 dl. sap van tab. gezond			
+ 63 dl. aq.dest.	1/512	–	1
„ 1 dl. verz. met 7 dl. sap van tab. gezond			
+ 127 dl. aq.dest.	1/1024	–	1
„ 1 dl. verz. met 7 dl. sap van tab. gezond			
+ 255 dl. aq.dest.	1/2048	–	1

De contrôles van gezond sap toonden bij een verduunning van 1:8 tot 1:32 een minimale agglutinatie, terwijl bij de verdere contrôles nergens een reactie te zien was.

Dat bij de contrôles van gezond sap nog een geringe agglutinatie optrad, deed denken aan de mogelijkheid dat het antiserum niet voldoende verzadigd geweest zou zijn. Echter ook bij verzadiging van 1 deel antiserum met 10, 15 of 31 delen in plaats van met 7 delen gezond sap, bleek nog een geringe reactie op te treden. Pas na een verduunning van deze verzadigde antisera met aq. dest. tot een uiteindelijke verduunning van 1:32 (soms 1:64) was geen agglutinatie meer waar te nemen.

Met onverzadigd serum was de sterkste verduunning, waarbij nog een reactie viel waar te nemen, 1:1000; gezond sap agglutineerde in dit geval bij een verduunning van hoogstens 1:64.

Tot nu toe is het met de agglutinatiereactie niet gelukt in sap van zieke chrysantemum *Cucumis virus 1 st. Chr.* aan te tonen.

Wel gelukte het de serologische verwantschap van *Cucumis virus 1 st. Chr.* met de gele stam No 6 van PRICE van *Cucumis virus 1* met de agglutinatie-reactie aan te tonen. Hierbij is een antiserum gebruikt dat door VAN DER WANT van deze gele stam was bereid, op dezelfde wijze als dit voor het *Cucumis virus 1 st. Chr.* (p. 156) geschiedde. Een overzicht van dit onderzoek (proef 20) geeft tabel 7.

Deze proef is enige malen met hetzelfde resultaat herhaald.

Duidelijk blijkt hier dat zowel het *Cucumis virus 1 st. Chr.* met het antiserum

TABEL 7. Agglutinatiereactie bij 25 °C van *Nicotiana tabacum* met *Cucumis virus 1 st. Chr.* en van sap van *Nicotiana tabacum* met de gele stam No. 6 van PRICE van *Cucumis virus 1*, samengebracht met antisera van deze twee viren, waarneming na $\frac{1}{2}$ uur
 ++ zeer duidelijke, + duidelijke, – geen agglutinatatie.
Agglutination test at 25 °C with sap of Nicotiana tabacum containing Cucumis virus 1 st. Chr. and with sap of Nicotiana tabacum containing the Yellow Strain of Cucumis virus 1, No. 6 of Price, mixed with antisera of these two viruses; observation after $\frac{1}{2}$ hour.
 ++ very distinct, + distinct, – no agglutination

	Sap van tabak		Sap of tobacco			
	Gezond 1 : 1 Healthy 1 : 1	Gezond 1 : 3 Healthy 1 : 3	Cu. v. 1 st. Chr. 1 : 1 Cu. v. 1 st. Chr. 1 : 1	Cu. v. 1 st. Chr. 1 : 3 Cu. v. 1 st. Chr. 1 : 3	Gele st. Cu v. 1 1 : 1 Y. str. Cu. v. 1 1 : 1	Gele st. Cu. v. 1 1 : 3 Y. str. Cu. v. 1 1 : 3
1.	–	–	–	–	–	–
2. NaCl 0,9%	–	–	–	–	–	–
3. Norm. Ser. 1 dl, verz. met 5 dl. sap van gezonde tab.	–	–	–	–	–	–
Norm. Ser. 1 p., sat. with 5 p. sap of healthy tob.						
4. Antiserum Cu. vir. 1 st. Chr. 1 dl, verz. met 5 dl. sap van gezonde tab. .	–	–	++	+	++	++
Antiserum Cu. vir. 1 st. Chr. 1 p., sat. with 5 p. sap of healthy tobacco						
5. Antiserum gele stam 1 dl, verz. met 5 dl. sap van gezonde tab.	–	–	+	+	+	+
Antiserum yellow str. 1 p., sat. with 5 p. sap of healthy tobacco						
6. Onverz. antiserum Cu. vir. 1 st. Chr. 1 dl + 5 dl. NaCl 0,9%	++	++	++	++	++	+
Unsaturated antiserum Cu. vir. 1 st. Chr. 1 p. + 5 p. NaCl 0,9%						

van de gele stam No 6 van PRICE, als het virus van de gele stam No 6 van PRICE met het antiserum van het *Cucumis virus 1 st. Chr.* agglutineren.
 Door de uitkomst van deze proeven wordt op overtuigende wijze de serologische verwantschap tussen het *Cucumis virus 1 st. Chr.* en de gele stam No 6 van Price van *Cucumis virus 1* bewezen.

Nabespreking

Wat de serologie betreft, is over het virus van chrysanten uit de literatuur niets bekend, wel is serologisch onderzoek verricht met *Cucumis virus 1* van andere gewassen.

De gegevens zijn echter schaars, BIRKELAND (1934), CHESTER (1937), GRANCINI en CESARONI (1950), NIENOW (1948), blijkbaar doordat het vele onderzoekers niet gelukte een antiserum van dit virus te bereiden, BAWDEN (1950, p. 273), BHARGAVA (1951).

Het lijkt wel waarschijnlijk dat het mislukken van de pogingen van deze onderzoekers ons een werkzaam antiserum te bereiden, zijn oorzaak vindt in het feit, dat sap met *Cucumis virus 1* gemakkelijk zijn infectievermogen verliest. NIENOW (1948) wijst er bijvoorbeeld op dat bevriezen het virus vernietigt. Bovendien werd door SILL, BURGER, STAHPMAN & WALKER (1952) aangetoond, dat *Cucumis*

virus 1 door centrifugeren reeds bij lage snelheden uit de vloeistof verdween. Aan VAN DER WANT (mondelinge mededeling) en ook aan mij bleek dat de gele stam No 6 van PRICE van *Cucumis virus 1* zijn infectievermogen volledig verloor, indien het virusbevattende sap zolang gecentrifugeerd werd tot het helder was. Met *Cucumis virus 1 st. Chr.* werd af en toe dezelfde ervaring opgedaan; zie zuivering en elektronenmicroscopie.

De voor het verkrijgen van een reactie nog toelaatbare verdunning van het antiserum is bij de agglutinatiereactie veel groter dan bij de precipitatiereactie. De oorzaak hiervan kan gezocht worden in het centrifugeren, waarbij, zoals reeds eerder bleek, het virus gedeeltelijk en soms geheel uit de vloeistof kan verdwijnen.

Mogelijk is hiermede ook een verklaring te geven voor de weinig duidelijke precipitatiereactie die verkregen werd na samenbrenging van het antiserum van *Cucumis virus 1 st. Chr.* met sap van *Cucumis virus 1* van augurken en voor het wegblijven van de reactie met sap van de gele stam No 6 van PRICE van *Cucumis virus 1*.

De agglutinatie-reactie van de gele stam No 6 van PRICE was daarentegen zeer duidelijk en hiermede kon de serologische verwantschap tussen het *Cucumis virus 1 st. Chr.* en de gele stam No 6 van PRICE worden aangetoond.

CHESTER (1937) vond serologische verwantschap van de gele stam No 6 van PRICE met PORTER'S *Cucumis virus 1*. NIENOW (1948) toonde serologische verwantschap aan tussen een virus van Mertensia en *Cucumis virus 1*. Deze onderzoekingen doen vermoeden dat de serologische verwantschap van *Cucumis virus 1 st. Chr.* zich niet beperkt tot de gele stam No 6 van PRICE van *Cucumis virus 1*, maar ook bestaat ten opzichte van andere stammen van het *Cucumis virus 1*.

Toch is het de vraag of alle stammen van het *Cucumis virus 1* serologisch verwant zijn. CHESTER (1937) kon namelijk van bepaalde stammen geen serologische verwantschap aantonen, zodat het twijfelachtig is of alle viren die op grond van de ziekteverschijnselen of van premunitietsonderzoek tot *Cucumis virus 1* gerekend worden, serologisch met elkaar verwant zijn.

G. OVERBRENGING VAN CUCUMIS VIRUS 1 VAN CHRYSANT DOOR BLADLUIZEN

Teneinde te weten te komen of *Cucumis virus 1 st. Chr.* door bladluizen wordt overgebracht, zijn enkele proeven verricht met *Myzus persicae* SULZ., die mij door de heer D. HILLE RIS LAMBERS waren toegestuurd ¹⁾.

Een aantal bladluizen van de soort *Myzus persicae*, voortgekweekt op *Solanum capsicastrum*, werden met een penseel overgebracht in een petrischaal, waarin zij 1 à 1½ uur verbleven zonder voedsel op te nemen. Daarna zijn deze bladluizen met een penseel, in een aantal van 5 tot 10 per plant, op *Nicotiana tabacum* of *Chrysanthemum indicum* met *Cucumis virus 1 st. Chr.* gezet en na 2 minuten zuigen op gezonde planten van *Nicotiana tabacum* „White Burley”, *N. glutinosa* en *Petunia hybrida nana compacta* „Celestial” overgebracht. In de 3 eerste proeven werden de toetsplanten met het penseel aangeraakt, in de laatste proef (24) is iedere aanraking der toetsplanten vermeden.

Het resultaat van deze proeven ziet men in tabel 8.

Uit tabel 8 blijkt duidelijk dat *Myzus persicae* in staat is het *Cucumis virus 1 st. Chr.* zowel van tabak als van chrysant op andere planten over te brengen, terwijl te constateren valt, dat *Myzus persicae* na een zuigtijd van 2 minuten op de infectiebron, reeds infectieus kan zijn.

¹⁾ Waarvoor ik de Heer HILLE RIS LAMBERS gaarne mijn dank betuig.

TABEL 8. Overbrenging van *Cucumis virus 1 st. Chr.* door *Myzus persicae*
Transmission of Cucumis virus 1 st. Chr. by Myzus persicae

Proef <i>Exper.</i>	Datum <i>Date</i>	Infectiebron <i>Source plant</i>	Zuigtijd in minuten <i>Feeding period in minutes</i>	Toetsplant <i>Test plants</i>	Zuig- tijd in uren <i>Feed. period in hrs</i>	Planten ¹⁾ geïnfecteerd <i>Plants ¹⁾ infected</i>
21 . . .	16-12-'50	Nic. tabacum	2	N. tabacum	5	0/2
				Petunia hybr.	5	1/2
22 . . .	19-12-'50	Nic. tabacum	2	N. tabacum	5	2/2
				N. tabacum	5	1/2
23 . . .	29-12-'50	Nic. tabacum	2	N. tabacum	120	5/9
24 . . .	17- 1-'51	Nic. tabacum	2	N. glutinosa	—	6/10
		Chrys. indicum	2	N. glutinosa	—	5/6

¹⁾ Noemer: aantal door luis geïnoculeerde, teller: aantal geïnfecteerde planten.
Number of plants infected, over number exposed.

H. PREMUNITEIT VAN CUCUMIS VIRUS 1 VAN CHRYSANT TEN OPZICHTE VAN 2 ANDERE STAMMEN VAN CUCUMIS VIRUS 1

In het hoofdstuk: Sapi-noculatie op toetsplanten (p. 144) is er op gewezen dat het chrysantenvirus overeenkomst vertoonde met *Cucumis virus 1*, maar ook zodanig verschilde dat het virus alleen op grond van de waargenomen verschijnselen niet geheel met zekerheid was te identificeren.

De feitelijke identificatie van het chrysantenvirus met *Cucumis virus 1* werd echter verkregen met behulp van de serologie (p. 160) en door de proeven omtrent premuniteit, die hieronder volgen.

Met „premuniteit”, een juistere term door QUANJER (1942) ingevoerd voor „acquired immunity”, wordt aangeduid de onvatbaarheid van een plant voor een virus, dat verwant is aan het virus dat reeds in die plant aanwezig is. Voor viren, waarvan de verwantschap niet bekend of twijfelachtig is, kunnen kruis-inoculaties de onderzoeker in staat stellen een eventuele verwantschap vast te stellen. Beschermt het virus in een plant deze tegen een volgende infectie met een ander, dan worden deze viren verwant genoemd. Is er daarentegen van bescherming geen sprake, dan mag zonder meer niet gezegd worden, dat de viren niet-verwant zijn. Dit laatste blijkt uit talrijke onderzoeken. Voor de uitgebreide literatuur over dit onderwerp wordt hier verwezen naar enkele samenvattende publicaties, als BAWDEN (1950, p. 118–124), PRICE (1940) en THUNG (1949, p. 78–84).

In de literatuur nu zijn talrijke stammen van *Cucumis virus 1* beschreven, die sterk kunnen verschillen in hun reactie op toetsplanten, maar die op grond van hun premuniserend vermogen bij kruisinoculaties door de auteurs toch tot *Cucumis virus 1* gerekend worden, PRICE (1935, 1937, 1939), AINSWORTH (1938), NIENOW (1948), FULTON (1950), ANDERSON (1951), BHARGAVA (1951), FAAN & JOHNSON (1951).

K. M. SMITH (1949, p. 128), die in chrysanten een virus aantrof, dat op *Nicotiana glutinosa* dezelfde verschijnselen vertoonde als *Cucumis virus 1 st. Chr.* constateerde dat zijn chrysantenvirus in *Nicotiana glutinosa* de infectie met een gele stam van komkommermozaïekvirus onmogelijk maakte. Op grond hiervan concludeert SMITH, dat zijn chrysantenvirus een stam is van het

Cucumis virus 1. Soortgelijke kruisinoculaties met een in chrysanten voorkomend virus en met *Cucumis virus 1* werden verricht door BLENCOWE & CALDWELL (1949) en BRIERLEY & SMITH (1951 *b*), echter met ander resultaat (zie p. 120 e.v.).

Om met behulp van het premunitiebeginnsel het bestaan van een verwantschap van ons chrysantenvirus met *Cucumis virus 1* aan te tonen, zijn door mij een aantal kruisinoculaties verricht.

Hierbij werden de volgende viren gebruikt:

1. Ons chrysantenvirus, d.w.z. *Cucumis virus 1 st. Chr.* (om verwarring te voorkomen wordt in dit hoofdstuk over „het chrysantenvirus” gesproken, als *Cucumis virus 1 st. Chr.* bedoeld is).
2. Een gele stam van komkommermozaïekvirus (mij toegestuurd door K. M. SMITH, Cambridge) ¹⁾. Deze gele stam is identiek met de gele stam No 6 van PRICE van *Cucumis virus 1*, PRICE (1934).
3. Augurkenmozaïekvirus, een stam van *Cucumis virus 1* (mij verschaft door F. TJALLINGH, Venlo) ²⁾, TJALLINGH (1949).

TABEL 9. Verschijnselen op *Nicotiana glutinosa* en *N. tabacum* van de 3 viren, die in de kruisinoculatieproeven werden gebruikt.
Symptoms on Nicotiana glutinosa and N. tabacum from the 3 viruses used in the cross-inoculation tests

Toetsplant <i>Test plant</i>	Chrysanten virus <i>Virus from Chrysanthemum</i>	Geel komkommermozaïekvirus <i>Yellow cucumber mosaic virus</i>	Augurkenmozaïekvirus <i>Gherkin mosaic virus</i>
<i>Nicotiana glutinosa</i>	1. groen bobbelig mozaïek <i>green mosaic with leaf blisters</i> 2. sterke deformatie en bladversmalling <i>marked malformation and narrowing of leaves</i> 3. zeer sterke groeiremming <i>very marked dwarfing</i>	1. geel bobbelig mozaïek <i>yellow mosaic with leaf blisters</i> 2. matige deformatie en bladversmalling <i>moderate malformation and narrowing of leaves</i> 3. vrij zwakke groeiremming <i>slight dwarfing</i>	1. zwak mozaïek zonder bobbeling <i>slight mosaic without blisters</i> 2. vrijwel normale blad-vorm <i>almost normal shape of leaf</i> 3. matige groeiremming <i>moderate dwarfing</i>
<i>Nicotiana tabacum</i> "WhiteBurley"	1. mozaïek van geel en groengeel, rondegeel-groene vlekken <i>green and yellowish-green mosaic with round yellowish-green spots</i> 2. blad bobbelig, enige deformatie van blad-rand <i>leaf with blisters, some deformation of the margins of the leaves</i>	1. geel tot wit mozaïek van scherphoekige vlekken <i>yellowish-white mosaic with angular spots</i> 2. blad vlak, geen deformatie, soms toegespitste bladtop <i>leaf flat, no deformation, sometimes apex abnormally pointed</i>	1. zeer onduidelijk mozaïek, later meestal geheel afwezig <i>very inconspicuous mosaic, later usually no symptoms</i> 2. blad vlak, geen deformatie <i>leaf flat, no deformation</i>

¹⁾ I am much indebted to DR K. M. SMITH for sending me the diseased material.

²⁾ Waarvoor ik de heer TJALLINGH gaarne mijn dank betuig.

De kruisinoculaties met bovengenoemde 3 viren werden uitgevoerd op *Nicotiana glutinosa* en *N. tabacum* „White Burley”.

Daar hoofdzakelijk op grond van de verschijnselen die deze 3 viren veroorzaken, bepaald werd, welke viren in de toetsplanten aanwezig waren, volgt in tabel 9 een korte, vergelijkende beschrijving van deze verschijnselen.

Het chrysantenvirus en de gele stam van *Cucumis virus 1* blijken dus duidelijk herkenbare verschijnselen te vertonen in de gebruikte toetsplanten. De aanwezigheid van augurkenmozaïekvirus was, in planten met één der twee andere viren, echter alleen te herkennen wanneer het virus volledig ging overheersen en dus de verschijnselen van het chrysantenvirus of de gele stam van *Cucumis virus 1* verdwenen. Bij het beoordelen der resultaten van proef 25 en 26 (tabel 10 en 11) moet men dit in aanmerking nemen.

Proef 25. Van 36 planten *Nicotiana tabacum* „White Burley” werden op 23-10-'50 telkens 12 geïnoculeerd met sap van een der 3 bovengenoemde viren. Alle planten vertoonden 7-11-'50 symptomen van het virus waarmede zij waren geïnoculeerd. Iedere groep van 12 werd 7-11-'50 weer verdeeld in 3 groepen van 4 planten, welke respectievelijk met de 3 viren werden geïnoculeerd. De verschijnselen die de planten vertoonden, werden aangetekend tot half Februari toe en zijn samengevat in tabel 10.

TABEL 10. Symptomen bij telkens 4 planten *Nicotiana tabacum* „White Burley” op de bladen, die zich na de 2e inoculatie met een der 3 viren hadden ontwikkeld. Deze 3 viren, augurkenmozaïekvirus, gele stam van komkommermozaïekvirus en het chrysantenvirus zijn in de tabel respectievelijk aangeduid met de afkortingen: Aug. moz. vi., Geel k.moz.vi. en Chr. vi.

Symptoms on 4 plants of Nicotiana tabacum „White Burley” on leaves developed after the 2nd inoculation with one of the 3 viruses. These 3 viruses, mosaic virus from gherkin, yellow strain of cucumber mosaic virus and virus from Chrysanthemum are designated in the table, resp. with the abbreviations: Gherkin mos.vi., Yellow cu.mos.vi. and Chr. vi.

1e inoculatie 1st inoculation 23-10-'50	2e inoculatie 2nd inoculation 7-11-'50		
	Augurkenmozaïekvirus <i>Gherkin mosaic virus</i>	Geelkomkommer mozaïek virus <i>Yellow cucumber mosaic virus</i>	Chrysanten virus <i>Virus from Chrysanthemum</i>
Augurkenmozaïekvirus <i>Gherkin mosaic virus</i>	4 Aug.moz.vi. 4 <i>Gherkin mos. vi.</i>	4 Aug.moz.vi. 4 <i>Gherkin mos. vi.</i>	4 Aug.moz.vi. 4 <i>Gherkin moz. vi.</i>
Geel komkommermozaïek- virus <i>Yellow cucurbermosaic virus</i>	4 Geel k.moz.vi. 4 <i>Yellow cu.mos.vi.</i>	4 Geel k.moz.vi. 4 <i>Yellow cu.mos.vi.</i>	3 Geel. k.mos.vi. 1 mengverschijnsel. 3 <i>Yellow cu.mos.vi.</i> 1 <i>mixed symptoms</i>
Chrysantenvirus <i>Virus from Chrysanthemum</i>	4 Chr.vi. 4 <i>Chr.vi.</i>	1 Chr.vi. 3 mengverschijns. 1 <i>Chr.vi.</i> 3 <i>mixed symptoms</i>	4 Chr.vi. 4 <i>Chr.vi.</i>

Uit deze proef blijkt duidelijk dat ieder der 3 viren in staat is om de plant min of meer te beschermen tegen een latere inoculatie met een der beide andere viren. De bescherming was bij augurkenmozaïek volledig, maar bij geel komkommermozaïek vertoonde één plant mengverschijnselen van geel komkommermozaïekvirus en het chrysantenvirus, terwijl bij het chrysantenvirus 3 van

de 4 planten mengverschijnselen vertoonden van het chrysantenvirus met geel komkommermozaïekvirus.

Geheel op dezelfde wijze en tegelijkertijd met *Nicotiana tabacum* is *N. glutinosa* geïnoculeerd. Ook het resultaat van deze inoculaties gaf de indruk dat infectie met één virus de plant tegen een volgende infectie met een der beide andere viren beschermde. Daar een deel der planten echter dood ging, blijkbaar door inoculatie op een te jong stadium, wordt van een verdere beschrijving van deze proef afgezien.

Proef 26. Hierbij is de tweede inoculatie niet na 2 weken als in proef 25, doch na 3 weken uitgevoerd. *Nicotiana tabacum* „White Burley” en *N. glutinosa* dienden als proefplanten.

Voor een deel der proefplanten werd, behalve op grond van de verschijnselen, ook door inoculatie op toetsplanten (*Nicotiana tabacum*, *N. glutinosa* en *Cucumis sativus*) tot aanwezigheid van één of twee viren geconcludeerd. Op deze wijze kon bijvoorbeeld de aanwezigheid van augurkenmozaïekvirus aangetoond

TABEL 11. Symptomen bij telkens 4 planten *Nicotiana tabacum* „White Burley” en *N. glutinosa* op de bladeren die zich na de 2e inoculatie met 3 viren (augurkenmozaïekvirus, gele stam van komkommermozaïekvirus en het chrysantenvirus) hadden ontwikkeld. Afkortingen als in tabel 10
Symptoms on 4 plants every of Nicotiana tabacum „White Burley” and N. glutinosa on leaves developed after the 2nd inoculation with the 3 viruses (Gherkin mosaic virus, Yellow strain of cucumber mosaic and the virus of Chrysanthemum. Abbreviations as in table 10

Toetsplant Test plant	1e inoculatie 1st inoculation 5-2-'51	2e inoculatie 2nd inoculation 26-2-'51		
		Augurken mozaïekvirus Gherkin mosaic virus	Geelkomkommer mozaïekvirus Yellow cucumber mosaic virus	Chrysantenvirus Virus from Chrysanthemum
<i>N. tabacum</i>	Augurken- mozaïekvirus <i>Gherkin mosaic virus</i>	4 Aug.moz.vi. 4 <i>Gherkin mos.vi</i>	4 mengverschijns. 4 <i>mixed symptoms</i>	3 Aug.moz.vi. 1 mengverschijns. 3 <i>Gherkin mos.vi</i> 1 <i>mixed symptoms</i>
	Geel komkommer- mozaïek virus <i>Yellow cucumber mosaic virus</i>	4 Geel k.moz.vi. 4 <i>Yellow cu. mos. vi.</i>	4 Geel k.moz.vi. 4 <i>Yellow cu. mos. vi.</i>	4 Geel k.moz.vi. 4 <i>Yellow cu. mos. vi.</i>
	Chrysantenvirus <i>Virus from Chry- santhemum</i>	4 Chr.vi. 4 <i>Chr.vi.</i>	1 Chr.vi. 3 mengverschijns. 1 <i>Chr.vi.</i> 3 <i>mixed symptoms</i>	4 Chr.vi. 4 <i>Chr.vi.</i>
<i>N. glutinosa</i>	Augurken- mozaïekvirus <i>Gherkin mosaic virus</i>	4 Aug.moz.vi. 4 <i>Gherkin mos.vi.</i>	4 Aug.moz.vi. 4 <i>Gherkin mos.vi.</i>	4 Aug.moz.vi. 4 <i>Gherkin mos.vi.</i>
	Geel komkommer- mozaïek virus <i>Yellow cucumber mosaic virus</i>	4 Geel k.moz.vi. 4 <i>Yellow cu. mos.vi.</i>	4 Geel k.moz.vi. 4 <i>Yellow cu. mos.vi.</i>	4 Geel k.moz.vi. 4 <i>Yellow cu. mos.vi.</i>
	Chrysanten virus <i>Virus from Chry- santhemum</i>	3 Chr. vi. 1 Aug. moz. vi. 3 <i>Chr.vi.</i> 1 <i>Gherkin mos.vi.</i>	3 Chr. vi. 1 mengverschijns. 3 <i>Chr. vi.</i> 1 <i>mixed symptoms</i>	4 Chr. vi. 4 <i>Chr. vi.</i>

worden in een plant die eerst met het chrysantenvirus en vervolgens met augurkenmozaïekvirus was geïnoculeerd.

De resultaten van de proef zijn samengevat in tabel 11.

De tweede inoculatie van 26-2-'51 is, behalve op de in tabel 11 weergegeven proefplanten ook uitgevoerd op even oude, gezonde planten bij wijze van blanco-proef. Al deze planten toonden naderhand ziekteverschijnselen van het virus, waarmee zij waren geïnoculeerd.

Ook hier blijkt, evenals uit proef 25, dat de aanwezigheid van één der viren de plant kan beschermen tegen de andere viren. Evenwel blijkt ook uit deze proef, dat de beschermende werking niet steeds aanwezig was. Augurkenmozaïek op *Nicotiana tabacum* beschermde niet tegen geel komkommermozaïek, terwijl het in 3 planten van de 4 wel tegen het chrysantenvirus beschermde. Geel komkommermozaïek beschermde volledig tegen de beide andere viren. Het chrysantenvirus daarentegen beschermde in 3 van de 4 planten niet tegen geel komkommermozaïek.

In *Nicotiana glutinosa* bleek premuniteit in sterker mate aanwezig te zijn, daar slechts 2 van de 36 planten geen bescherming gaven tegen het virus dat bij de tweede inoculatie op de planten gebracht werd. In één plant met het chrysantenvirus werd dit virus door augurkenmozaïek verdrongen, terwijl één plant met het chrysantenvirus niet tegen geel komkommermozaïek beschermde.

Samenvattend kan gezegd worden dat de 3 viren de plant als regel beschermen tegen een latere infectie met deze viren. Het chrysantenvirus bezit deze beschermende eigenschap ten opzichte van geel komkommermozaïek in geringere mate. Van de in totaal 12 planten met het chrysantenvirus, bij welke de tweede inoculatie met geel komkommermozaïekvirus plaats vond, vertoonden er namelijk 7 naderhand ook verschijnselen van geel komkommermozaïekvirus. Van een verdringing, na de tweede inoculatie, van het chrysantenvirus door een der twee andere viren kon echter niet gesproken worden; de viren bleven steeds naast elkaar aanwezig in de planten. Slechts bij de plant met het chrysantenvirus, die naderhand werd geïnoculeerd met augurkenmozaïekvirus bleek bij inoculatie op toetsplanten in de topbladeren uitsluitend dit laatste virus aanwezig te zijn.

Nabespreking

Op grond van dit premuniteitsonderzoek komen we tot de conclusie dat de 3 onderzochte viren verwantschap met elkaar vertonen.

De vraag rijst hier echter of de waarneming dat er enkele planten waren die geen premuniteit vertoonden, als een argument tegen deze verwantschap beschouwd moet worden. Dat hiertoe geen noodzaak bestaat, bewijzen talrijke vermeldingen in de literatuur van viren die een plant niet of niet altijd premuun maken tegen een infectie van een verwant virus. BAWDEN (1934), GIDDINGS (1938, 1940, 1941), HOLMES (1934), JOHNSON & VALLEAU (1935), KÖHLER (1935), KUNKEL (1934), SALAMAN (1938), SMITH (1951), THUNG (1937, 1938).

THUNG (1937, 1938, 1939) wijst er op, dat het wel voorkomt dat het ene virus wel tegen het andere beschermt, maar niet omgekeerd, tengevolge van een gradatie in premuniserend vermogen. Bij de reacties van het geel komkommermozaïek en het chrysantenvirus is naar mijn mening ook sprake van afdalende sterkte in premuniteit.

Algemeen wordt door virologen het principe voorgestaan om viren die serologisch en (of) premunologisch verwant zijn te classificeren tot één virus of één

groep van viren (verg. BAWDEN 1950 p. 270 e.v.; THUNG 1949, p. 84 e.v.). Zo werden onder *Cucumis virus 1* een aantal viren gerangschikt op grond van premuniteitsonderzoek door PRICE (1935, 1937, 1939), AINSWORTH (1938), NIENOW (1948), FULTON (1950), ANDERSON (1951) en BHARGAVA (1951).

Het lijkt mij daarom juist ook het chrysantenvirus in navolging van SMITH (1949), op grond van het in dit hoofdstuk beschreven premuniteitsonderzoek en tevens op grond van de serologische resultaten, te rekenen tot het *Cucumis virus 1*. Wegens de sterk afwijkende reactie op enkele toetsplanten dient het chrysantenvirus echter als een aparte stam beschouwd te worden, en is daarom in dit onderzoek aangeduid als *Cucumis virus 1 st. Chr.*

V. VIRUS B

A. SAPINOCULATIE MET VIRUS B OP TOETSPLANTEN

Inleiding

Op p. 132 is reeds vermeld dat met sap van bepaalde chrysanten op *Petunia* een locale reactie opgewekt kon worden, veroorzaakt door een virus dat werd aangeduid als *virus b*.

Om geschikte toetsplanten te vinden en het virus zo mogelijk te identificeren, werden sapinoculaties uitgevoerd op 31 plantensoorten, op dezelfde wijze als beschreven is op p. 132.

Anders dan bij *Cucumis virus I st. Chr.*, waar het virus zich in de toetsplant verspreidde en dus in de toetsplant een behoorlijke hoeveelheid virus voor de inoculatie ter beschikking stond, waren bij *virus b* tot nu toe slechts locale reacties en geen spreidsymptomen op de tot dusver gevonden toetsplanten (o.a. *Petunia*) bekend, waardoor het niet mogelijk was een geïnfecteerde toetsplant voor de vrij omvangrijke inoculatieproeven te gebruiken.

Hier volgt een beschrijving van de ziektesymptomen die door *virus b* bij 7 van de 31 geïnoculeerde plantensoorten werden veroorzaakt, terwijl tenslotte een opsomming volgt van de plantensoorten, bij welke geen of een onduidelijke reactie werd waargenomen.

Antirrhinum maximum album

Vier van de 5 planten vertoonden op de geïnoculeerde bladeren na ruim 5 weken 2-7 ronde, geelgroene vlekken van ongeveer $\frac{1}{2}$ cm diam.

Calendula officinalis

Bij 4 der 5 planten waren 2 $\frac{1}{2}$ maand na de inoculatie spreidsymptomen zichtbaar, namelijk bruin necrotische vlekken van ongeveer 1 mm., omgeven door geel weefsel of soms door een necrotische ring.

Sapinoculatie van deze planten gaf op *Petunia virus b*-reactie.

Callistephus sinensis Dwerg Allerheiligen

Bij alle 5 planten vergeelden, 6 weken na inoculatie, de geïnoculeerde bladeren met grote vaag begrensde of, bij jongere bladeren, kleinere scherper begrensde vlekken. De niet geïnoculeerde bladeren vertoonden een vrij duidelijk mozaïek. De groei der planten was meer gedrongen dan normaal. Sapinoculatie gaf op *Petunia* slechts een twijfelachtige reactie van *virus b*.

Chrysanthemum indicum (zie p. 170).

Helichrysum bracteatum monstrosum fl. pl. gemengd

Beschrijving naar de verschijnselen op talrijke planten.

Na 12 tot 16 dagen ontstaan op de geïnoculeerde bladeren 1 tot 3, of hoogstens

10 bruine tot zwarte vlekken, die zich gaan uitbreiden; nervnecrose en afsterven van deze bladeren volgt (Fig. 29).

Bij 5 planten van welke het verloop van de verschijnselen verder werd gevolgd, bleek het virus zich door de plant verspreid te hebben en uitte zich in een geremde groei van de plant en een vroegtijdig afsterven van de onderste niet-geïnoculeerde bladeren. Inoculatie met sap van niet geïnoculeerde bladeren gaf virus *b*-reactie op *Petunia*.

De duidelijkheid der reactie op de geïnoculeerde bladeren zou *Helichrysum* zeer geschikt maken om als toetsplant gebruikt te worden. Al te dikwijls echter blijft de reactie geheel achterwege, of beperkt zich tot een enkele vlek.

Nicotiana glutinosa

Van de talloze keren dat *Nicotiana glutinosa* werd geïnoculeerd is slechts bij uitzondering na 3 of 4 weken een reactie waargenomen op de geïnoculeerde bladeren, bestaande uit vaag begrensde, iets lichter groene vlekken van 2-3 mm diam. Sapinoculatie van de geïnoculeerde bladeren gaf virus *b*-reactie op *Petunia*.

Petunia hybrida nana compacta

De verschijnselen worden hier beschreven naar waarnemingen in talloze proeven.

Na 3 weken, soms reeds eerder (na 2½), of later (na 4 weken), worden op de geïnoculeerde bladeren gele vlekjes zichtbaar.

De vlekken, die in een aantal van 1 tot 10, (soms echter meer, tot een aantal van 50 toe) aanwezig zijn, hebben een diameter van ½-2 mm (Fig. 21).

Op de onderste bladeren der plant zijn de vlekjes groter, vager begrensd en dikwijls minder scherp afstekend (door de bleker groene kleur van het blad) dan op de jongere bladeren (Fig. 20). Vaak zijn op de oudste bladeren de vlekjes al zeer spoedig bruin necrotisch en volgt een afsterven van deze bladeren.

Op de jongere bladeren blijven de gele vlekjes echter enkele weken zichtbaar, totdat na bijvoorbeeld 6 weken, het gehele blad vergeelt. Als overgang tussen de reactie op de oudste en de jongere bladeren is te beschouwen het een enkele maal voorkomende verschijnsel van gele, naast bruingrijze of bruine necrotische vlekken (Fig. 20), welke laatste zich soms in de nerven voortzetten. Op de niet geïnoculeerde bladeren werd nooit een reactie waargenomen.

Het aantal vlekken, dat op de bladeren verschijnt, bleek in sterke mate afhankelijk te zijn van het jaargetijde waarin de inoculatie werd verricht; van Mei tot September was soms bij een deel der toetsplanten in het geheel geen reactie



FIG. 29.

Helichrysum bracteatum. Met virus *b* geïnoculeerd blad: Zwartbruine necrotische vlekken, 2½ week na sapinoculatie.

Helichrysum bracteatum. Leaf inoculated with virus *b*: Blackish-brown necrotic spots, 2½ weeks after sap inoculation.

waar te nemen of viel slechts een vage weinig overtuigende vergeling van grotere delen van het blad te constateren.

Sapinoculatie van geïnoculeerde *Petunia*-bladeren gaf weer de *virus b*-reactie op *Petunia*, terwijl sap van niet-geïnoculeerde bladeren nooit een reactie gaf.

De volgende twee proeven werden gedaan om te onderzoeken of er een variëteit van *Petunia hybrida nana compacta* het meest geschikt is om als toetsplant te gebruiken.

Proef 27 (1-5-'51.) 4 Weken na sapinoculatie werden op 10 planten van de variëteit Celestial in totaal 11, en op 10 planten van de variëteit Hemelroosje in totaal 20 gele vlekken geteld. Hemelroosje leek dus iets gunstiger te reageren dan Celestial, maar vertoonde daarentegen meer vergeling van de bladeren, wat de reactie aan duidelijkheid deed verliezen.

Proef 28 (15-5-'52). 4 planten van de variëteiten Celestial, Howard Star, Rosy Morn en Sneeuwbal vertoonden alle na sapinoculatie slechts enkele gele vlekjes. Geen van deze variëteiten bleek dus voor toetsplant een grotere geschiktheid te bezitten.

Geen enkele variëteit gaf ook een belangrijk duidelijker differentiatie in verschijnselen te zien van *Cucumis virus 1 st. Chr.* en *virus b*, wanneer deze tegelijkertijd waren geïnoculeerd.

Een enkele inoculatie op telkens 5 planten van *Adonis aestivalis*, *Ageratum mexicanum*, *Calliopsis lanceolata*, *Chrysanthemum carinatum*, *C. leucanthemum*, *C. segetum*, *Cucumis sativus*, *Datura stramonium*, *Dianthus barbatus*, *Doronicum caucasicum*, *Gaillardia grandiflora*, *Gerbera jamesonii*, *Helianthus annuus*, *Iberis coronata*, *Matricaria eximia*, *Nicotiana tabacum*, *Papaver nudicaule*, *Primula obconica*, *Senecio cruentus*, *Solanum capsicastrum*, *Solanum Lycopersicum*, *Tagetes patula*, *Tropaeolum majus* en *Zinnia elegans* gaf geen of een zeer twijfelachtige reactie.

Wat de geschiktheid betreft om als toetsplant van *virus b* gebruikt te worden, blijkt dat alleen *Petunia hybrida nana compacta* (indien bij de te onderzoeken plant tenminste *Cucumis virus 1 st. Chr.* ontbreekt) hiervoor in aanmerking kan komen. *Helichrysum bracteatum*, die nog sneller dan *Petunia* en zeer duidelijk een reactie geeft, zou, ook bij aanwezigheid van *Cucumis virus 1 st. Chr.*, als toetsplant bijzonder geschikt kunnen zijn, was het niet dat bij deze plant maar al te dikwijls de reactie achterwege blijft.

B. SAPINOCULATIE OP CHRYSANTHEMUM INDICUM MET VIRUS B

Met hetzelfde doel, op dezelfde wijze en op dezelfde tijd als voor *Cucumis virus 1 st. Chr.* geschied is (zie p. 145), zijn zaailingen en chrysantenvariëteiten geïnoculeerd met sap van chrysanten, in welke *virus b* was aangetroffen.

a. Sapinoculatie op zaailingen.

Op de bladeren zijn geen ziekteverschijnselen opgetreden, maar 6 van de 24 planten hadden bloemen die vlekkerig of min of meer gedraaid waren.

Bij sapinoculatie bleken deze en ook nog 5 planten zonder ziekteverschijnselen *virus b* te bevatten. Van 4 planten was de reactie op toetsplanten twijfelachtig, van de overige 9 negatief; één der 24 planten bleek door *Cucumis virus 1 st. Chr.* aangetast te zijn. Geen der 24 contrôleplanten was door *virus b* aangetast.

Drie van deze contrôleplanten, waarvan één door *Cucumis virus 1 st. Chr.* was aangetast en één een twijfelachtige reactie gaf, toonden onregelmatigheden in de bloem.

Duidelijk blijkt dat *Chrysanthemum indicum* door sapinoculatie met *virus b* ziek te maken is, maar door het sterk verschillend uiterlijk der zaailingen is niet precies te zeggen, welke afwijkingen in de bloemen ten gevolge van de infectie met *virus b* ontstonden.

b. Sapinoculatie op chrysantenvariëteiten

Daar de voor sapinoculatie met *virus b* bestemde planten van 4 variëteiten alle reeds door *virus b* aangetast bleken te zijn, konden geen proeven genomen worden om door sapinoculatie uit te maken welke verschijnselen bij bepaalde variëteiten door *virus b* veroorzaakt kunnen worden.

Wel werden (13-6-'51) telkens 10 jonge planten, afkomstig van door *virus b* aangetaste Miss Wilcox met rode bloemen, geïnoculeerd met sap van gestreept- en geelbloeiende Miss Wilcox (zie voor ziektebeeld p. 134). Nooit is naderhand, ook niet tijdens de bloei in November, enig verschil opgetreden tussen de geïnoculeerde planten en de contrôle; alle planten hadden normaal rode bloemen, geen enkele gestreepte of gele. Het is niet duidelijk wat de oorzaak kan zijn dat de streping en de gele kleur niet was op te wekken.

Mogelijk betreft het hier een geval van „premuniteit“. De rood bloeiende planten waren reeds door *virus b* aangetast en het is mogelijk dat dit virus de planten beschermd tegen een andere stam van *virus b*, die de gele kleur in Miss Wilcox opwekt.

C. EIGENSCHAPPEN VAN VIRUS B IN PERSSAP

a. Verdunningsgrens

In proef 29 (20-9-'51) werd onverdund sap en sap verdund tot 1:100 en 1:10.000 op telkens 5 *Petunia*'s geïnoculeerd, maar naderhand werd bij geen enkele plant een duidelijke reactie van *virus b* waargenomen.

In proef 30 (9-11-'51) werd slechts onverdund en 1:10 verdund sap op telkens 5 *Petunia*'s geïnoculeerd. Het aantal gele vlekken, als reactie van *virus b*, bedroeg naderhand voor onverdund sap in totaal 24, voor 1:10 verdund sap 11.

Het aantal proeven is te gering om bepaalde conclusies te trekken aangaande de verdunningsgrens van sap met *virus b*.

Op grond van ervaringen bij vele sapinoculaties, is het ook hier wel waarschijnlijk dat de verdunningsgrens verschillend zal zijn al naar de tijd van het jaar waarin de proef genomen wordt.

Het onderzoek dat het laatste halfjaar tengevolge van het ongunstige jaargetijde geen resultaten afwierp, zal in gunstiger maanden worden voortgezet.

b. Inactiveringstemperatuur

Proef 31 (9-4-'51). Bladeren van de chrysantenvariëteit Miss Wilcox met *virus b* werden in een mortier fijn gemaakt, door mul geperst en verdeeld over 5 buisjes. Ditzelfde werd gedaan met bladeren van dezelfde chrysanten, waaraan vóór het uitpersen per 100 g, 1 g Natriumsulfiet ($\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) werd toegevoegd. Alle buisjes werden, voor en na de verhitting, tot aan de inoculatie in ijs

bewaard. De buisjes van ieder der twee series werden respectievelijk verhit tot 30, 40, 50, en 60 °C. Na afloop van de verhitting van alle buisjes, vond de inoculatie plaats op alle bladeren (6 tot 8) van telkens 5 planten *Petunia hybrida nana compacta* „gemengd”.

Na 4 en 5 weken werd het aantal gele vlekjes op de geïnoculeerde bladeren geteld.

Uit deze proef, waarvan de resultaten zijn samengevat in tabel 12, blijkt dat sap zonder Na_2SO_3 bij 60 °C reeds inactief is, terwijl sap met Na_2SO_3 bij 60 °C nog niets van zijn virulentie heeft ingeboet.

Aangezien het Na_2SO_3 aan de bladeren vóór het uitpersen werd toegevoegd, kon in de proeven met en zonder Na_2SO_3 (No 31 en 35) niet van gelijkwaardig sap worden uitgegaan. De uit te persen bladeren waren echter zo gekozen, dat de virulentie van het virus in beide groepen niet veel kon verschillen. De proeven 32, 33, 34 en 35 zijn een herhaling van proef 31.

Behalve dat het sap soms van planten van andere chrysantenvariëteiten afkomstig was en de verhitting tot hoger temperaturen plaats vond, zijn deze proeven op dezelfde wijze uitgevoerd als proef 31. In plaats van *Petunia hybrida nana compacta* „gemengd” werd *P. hybr. nana compacta* „Celestial” gebruikt. De resultaten van deze proeven zijn eveneens samengevat in tabel 12.

TABEL 12. Totaal aantal gele vlekken op telkens 5 planten *Petunia hybr. nana compacta*, veroorzaakt door sap met virus b, verhit tot verschillende temperaturen
Total number of yellow spots on 5 plants of *Petunia hybrida nana compacta*, caused by sap containing virus b, heated to different temperatures

Proef Exper.	Datum Date		Onverhit Unheated	Temperatuur in °C (10 minuten) Temperature in °C (10 minutes)						
				30	40	50	60	70	80	90
31	9-4-'51	Perssap	14	13	7	6	0	—	—	—
		Sap Perssap + 1 g Na_2SO_3 100 cm ³ Sap + 1 g Na_2SO_3 per 100 ml	19	19	48	33	38	—	—	—
32	2- 8-'51	Perssap + 1 g Na_2SO_3 p. 100 cm ³ Sap + 1 g Na_2SO_3 per 100 ml	39	42	59	41	8	0	0	0
33	27-12-'51	Perssap Sap	24	—	—	4	1	0	0	—
34	25- 1-'52	Perssap + 1 g Na_2SO_3 p. 100 cm ³ Sap + 1 g Na_2SO_3 per 100 ml	39	50	86	103	182	7	0	—
35	27- 2-'52	Perssap	173	83	64	8	31	3	0	—
		Sap Perssap + 1 g Na_2SO_3 p. 100 cm ³ Sap + 1 g Na_2SO_3 per 100 ml	339	357	530	369	168	26	0	—

Uit deze proeven blijkt, dat *virus b*-houdend perssap in 3 gevallen (proef 34 en 35) tussen 70 en 80°C, in 2 (3?) gevallen (proef 31, 32 en 33) tussen 60 en 70°C en in 1 geval (proef 31) reeds tussen 50 en 60°C werd geïnactiveerd. Het aantal gele vlekken op *Petunia*-bladeren bij perssap met Na_2SO_3 is belangrijk hoger dan bij perssap zonder Na_2SO_3 , welk verschil nog duidelijker wordt bij verwarming van het sap; Neemt de virulentie van het perssap zonder bijvoeging reeds af bij verwarmen tot 30 en 40°C, perssap met Na_2SO_3 neemt bij deze temperaturen in virulentie toe, totdat bij 60 of 70°C een plotselinge daling optreedt.

Of het reductievermogen van Na_2SO_3 deze verhoogde virulentie te weeg brengt, kan pas blijken na verder onderzoek, b.v. met andere reducerende stoffen.

Gezegd kan worden dat de temperatuursgrens van het perssap in de wintermaanden tussen 70 en 80°C lag; in de voorjaars- en zomermaanden werd het virus in het toch al niet sterk infectieuze sap reeds tussen 50 en 70°C geïnactiveerd.

c. Inactivering bij bewaren

Een proef ter bepaling van de tijd dat het virus bewaard kon worden zonder dat de virulentie van virus b verdween, mislukte door het geringe infectievermogen van het toen gebruikte sap.

Uit de practijk bleek mij, speciaal bij de zuivering, dat *virus b* binnen een bewaartijd van 24 uur bij 0°C op *Petunia* nog een sterke reactie gaf.

Het onderzoek zal in een gunstiger seizoen worden voortgezet.

D. ZUIVERING VAN VIRUS B

Met hetzelfde doel en op dezelfde wijze als voor *Cucumis virus 1 st. Chr.* is beschreven, werd enige malen geprobeerd ook *virus b* te zuiveren.

Het zuiveren van *virus b* is met deze methode niet gelukt, zoals blijkt uit proef 36 en 37. Daarom werd in proef 41 bij het precipiteren, ammoniumsulfaat, dat blijkbaar het virus inactiverde, vervangen door alcohol. Op deze wijze kon in proef 41 *virus b* inderdaad gezuiverd worden.

Daar gebleken was dat uitpersen van bladeren met *virus b*, onder toevoeging van 1 g Natriumsulfiet ($\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) p. 100 g blad, dikwijls een belangrijk sterker reactie op *Petunia hybrida* als toetsplant gaf, is bij de zuivering in vele gevallen vóór het uitpersen Natriumsulfiet toegevoegd; de gunstige invloed hiervan blijkt in deze onderstaande proeven echter niet steeds aanwijsbaar.

Proef 36 (8-1-'52). De zuiveringsmethode, zoals deze beschreven is op p. 152 werd toegepast met *virus b*-houdende chrysantenbladeren.

Sap vóór en na de eerste maal centrifugeren en het precipitaat dat na precipiteren met $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ weer was opgelost in water, werd geïnoculeerd op telkens 4 *Petunia*-planten. Het resultaat van deze proef ziet men in tabel 13.

Duidelijk blijkt uit deze tabel dat *virus b* na het centrifugeren in de bovenstaande vloeistof aanwezig bleef, maar dat het virus, na toevoegen van $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, geheel was geïnactiveerd.

Proef 37 (9-11-'51), op dezelfde wijze uitgevoerd als proef 36, liet eveneens overtuigend zien dat het virus in het gezuiverde sap geïnactiveerd was, maar in het ruwe perssap niet.

Aan het resultaat van de volgende 3 op dezelfde wijze genomen proeven, 38 39 en 40 (29-5-'51, 2-8-'51 en 20-9-'51), is weinig waarde te hechten, daar het virus al in het onbehandelde sap een zeer gering infectievermogen bleek te bezitten. Van een bespreking zien wij dan ook af.

TABEL 13. Aantal gele vlekken op bladeren van *Petunia* hybr. *nana compacta*, geïnoculeerd met fracties van de zuivering van virus b
Number of yellow spots on leaves of Petunia hybr. nana compacta, inoculated with various fractions in the purification of virus b

Fracties van de zuivering <i>Fractions in the purification</i>	Aantal vlekken op 4 toetsplanten <i>Number of spots on 4 indicatorplants</i>
1. Perssap van chrysantenbladeren met virus b <i>Sap from leaves of chrysanthemum with virus b</i>	322
2. Heldere bovenstaande vloeistof na 1 uur centrifugeren bij 3000 toeren per min. van 1. <i>Clarified sap after 1 hour centrifuging at 3000 r. p. m. of 1.</i>	279
3. Precipitaat van een mengsel van 2. met $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 25 g p. 100 cm ³ , gecentrifugeerd en daarna opgenomen in water <i>Precipitate of a mixture of 2. with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 25 g p. 100 ml., centrifuged and resuspended in water</i>	0
I Perssap van chrysantenbladeren met virus b, uitgeperst met Na_2SO_3 , 1 g per 100 g. blad <i>Sap from leaves of chrysanthemum with virus b, with Na_2SO_3, 1 g p. 100 g. of leaves</i>	46
II Heldere bovenstaande vloeistof na 1 uur centrifugeren bij 3000 toeren per min. van I <i>Clarified sap after 1 hour centrifuging at 3000 r. p. m. of I</i>	64
III Precipitaat van een mengsel van II met $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 25 g per 100 cm ³ , gecentrifugeerd en daarna opgenomen in water <i>Precipitate after centrifuging of a mixture of II with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 25 g p. 100 ml., centrifuged and resuspended in water</i>	0

Proef 41 (19-2-'52). De zuivering in proef 36 en 37 mislukte doordat *virus b* bij toevoeging van $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ werd geïnactiveerd.

In proef 41 is de juistheid van deze waarneming nogmaals aangetoond, terwijl daarnaast getracht werd het neerslaan, in plaats van met $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, met alcohol tot stand te brengen.

Het uitpersen van de chrysantenbladeren met *virus b*, het bevriezen en centrifugeren werd uitgevoerd zoals beschreven op p. 152. Vóór het uitpersen werd meestal Na_2SO_3 toegevoegd in een eindconcentratie van 1%. De bovenstaande vloeistof werd, na het respectievelijk toevoegen van alcohol en $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 6 uur bij 0°C bewaard, vervolgens afgecentrifugeerd, waarna het precipitaat weer in iets water werd opgenomen. Alle fracties (tussentijds bewaard bij 0°C) werden tegelijkertijd, 11 uur na het uitpersen van het sap, geïnoculeerd op telkens 5 *Petunia*-planten. De fracties die met $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ waren neergeslagen, zijn echter pas na 10 uur dialyseren in water geïnoculeerd, dus 24 uur na het uitpersen van het sap.

De bovenstaande vloeistof van het gecentrifugeerde sap, dat behandeld was met alcohol (tabel 14: 3, 4 en 5), werd in verdunde toestand op de toetsplanten gewreven om te voorkomen dat de planten door de alcohol beschadigd zouden worden. Ter vergelijking werd ook de bovenstaande vloeistof zonder alcohol, in een verdunning van 1:3 geïnoculeerd op *Petunia*.

Een overzicht van deze proef geeft tabel 14.

Uit tabel 14 ziet men, dat bij toevoeging van alcohol met een eindconcentratie van 10% en 20%, in de bovenstaande vloeistof nog virus aanwezig was, maar dat

TABEL 14. Totaal aantal gele vlekken op geïnoculeerde bladeren van telkens 5 planten van *Petunia hybrida nana compacta*, geïnoculeerd met op verschillende wijzen behandelde fracties van chrysantensap met virus b
Total number of yellow spots on inoculated leaves of groups of 5 plants of Petunia hybrida nana compacta, inoculated with fractions of sap from chrysanthemum with virus b, treated in different ways

Fracties van de zuivering <i>Fractions in the purification</i>	Aantal vlekken op 5 <i>Petunia</i> planten <i>Number of spots on 5 Petunia plants</i>
1. Bovenst. vloeistof, na bevroren en centrifugeren (gedurende 100 min. bij 3000 toeren per min.) van het Chrysantensap . . . <i>Clarified sap, after freezing and centrifuging (for 100 minutes at 3000 r. p. m.)</i>	95
2. Bovenst. vloeistof als 1., verdund 1 : 3 <i>Clarified sap as 1., diluted 1 : 3</i>	106
3. 1 dl van 1. + 1 dl alcohol 20%, bovenst. vloeistof verdund 1 : 3 <i>1 part of 1. + 1 part alcohol 20%, clarified liquid diluted 1 : 3</i>	136
4. 1 dl van 1. + 1 dl alcohol 40%, bovenst. vloeistof verdund 1 : 6 <i>1 part of 1. + 1 part alcohol 40%, clarified liquid diluted 1 : 6</i>	89
5. 1 dl van 1. + 1 dl alcohol 60%, bovenst. vloeistof verdund 1 : 12 <i>1 part of 1. + 1 part alcohol 60%, clarified liquid diluted 1 : 12</i>	1
6. Precipitaat na centrifugeren van 1 dl van 1. + 1 dl alcohol 40%, opgenomen in oorspr. hoeveelheid water <i>Precipitate after centrifuging 1 part of 1. + 1 part alcohol 40%, suspended in original quantity of water</i>	82
7. Precipitaat na centrifugeren van 1 dl van 1. + 1 dl alcohol 60%, opgenomen in oorspr. hoeveelheid water <i>Precipitate after centrifuging 1 part of 1. + 1 part alcohol 60%, suspended in original quantity of water</i>	273
8. Precipitaat na centrifugeren van 2 cm ³ van 1. + 200 mg (NH ₄) ₂ SO ₄ , in iets water opgenomen en 10 uur gedialyseerd . . <i>Precipitate after centrifuging of 2 ml. of 1. + 200 mg. (NH₄)₂SO₄, suspended in a little water and dialysed for 10 hrs</i>	18
9. Precipitaat na centrifugeren van 2 cm ³ van 1. + 400 mg (NH ₄) ₂ SO ₄ , in iets water opgenomen en 10 uur gedialyseerd . . <i>Precipitate after centrifuging of 2 ml. of 1. + 400 mg. (NH₄)₂SO₄, suspended in a little water and dialysed for 10 hrs</i>	0
10. Perssap 24 uur bewaard bij 0 °C, op dezelfde tijd als 8. en 9. geïnoculeerd <i>Sap kept at 0 °C for 24 hrs, inoculated at the same time as 8. and 9.</i>	60

bij toevoeging van alcohol met een eindconcentratie van 30% practisch alle virus uit de bovenstaande vloeistof was verdwenen. Blijkbaar is het virus na toevoeging van alcohol met een eindconcentratie van 30% in het precipitaat terecht gekomen, daar dit, weer opgenomen in water, een duidelijke reactie op *Petunia* gaf. Deze reactie was aanzienlijk sterker dan die, welke het gelijk behandelde precipitaat van de vloeistof met alcohol in een eindconcentratie van 20% gaf. We zijn geneigd te concluderen, dat naarmate het virus meer uit de bovenstaande vloeistof verdwijnt het in steeds groter hoeveelheid en nog geheel actief in het precipitaat terecht komt.

Het precipitaat, dat uit de heldere bovenstaande vloeistof, gemengd met 200 mg (NH₄)₂SO₄ (10%), na centrifugeren is neergeslagen, heeft in belangrijke mate aan virus-activiteit ingeboet, terwijl na menging met 400 mg (NH₄)₂SO₄ (20%) het virus in het precipitaat volledig is geïnactiveerd.

Twee proeven, 42 en 43 (12-3-'52 en 21-4-'52), waarbij nogmaals geprobeerd

werd *virus b* te zuiveren, mislukten. De bovenstaande vloeistof, na het centrifugeren van het ruwe sap, gaf op *Petunia* al geen reactie meer.

E. GEGEVENS VAN VIRUS B VERKREGEN MET ELECTRONENMICROSCOPIE

Tegelijkertijd met het electronenmicroscopisch onderzoek van *Cucumis virus 1 st. Chr.* is ook *virus b* onderzocht. Wat inleiding en methoden betreft kan verwezen worden naar p. 154; Slechts de wijze van zuivering volgens methode 1, werd enigszins anders uitgevoerd, namelijk door precipitatie met alcohol in plaats van ammoniumsulfaat (zie p. 173 e.v.).

De preparaten zijn uitsluitend van sap van chrysanten met *virus b* gemaakt, waarbij gezond chrysantensap als contrôle diende. In totaal werden van *virus b*-houdend sap 20 preparaten vervaardigd, terwijl van 3 van deze preparaten foto's werden genomen.

In de met alcohol gedeeltelijk gezuiverde preparaten (23-4-'52), waren staafvormige deeltjes te onderscheiden en wel in geringe hoeveelheid. Daar het gezuiverde sap op toetsplanten geen verschijnselen gaf, was blijkbaar de zuivering slecht gelukt en kon in de preparaten dan ook geen groot aantal virusdeeltjes verwacht worden.

In de preparaten gemaakt met sap dat 100 minuten bij 3000 toeren p. min. was gecentrifugeerd, werden (6-8-'52) geen deeltjes gevonden die als het virus beschouwd zouden kunnen worden.

In de preparaten die (6-8-'52) met de druppelmethode (methode 3) werden gemaakt, waren weer enkele staafvormige deeltjes te vinden.

Het lijkt waarschijnlijk dat deze waargenomen staafvormige deeltjes, die een afmeting hadden van ongeveer $600 \times 30 \mu$ en in de preparaten van de gezonde chrysanten ontbraken, het beeld zijn van *virus b*. Ook hier zal, evenals bij het *Cucumis virus 1 st. Chr.*, verder onderzoek meer zekerheid moeten verschaffen.

F. SEROLOGIE VAN VIRUS B

Door VAN DER WANT te Wageningen werd een antiserum verkregen na inspuiting van een konijn met *virus b*-houdend chrysantensap. De gebruikte methode was dezelfde als die bij het bereiden van een antiserum van *Cucumis virus 1 st. Chr.* werd toegepast (zie p. 156).

Op dezelfde wijze als voor *Cucumis virus 1 st. Chr.* (zie p. 156 e.v.) is door mij onderzocht of met dit antiserum *virus b* was aan te tonen. Dat dit mogelijk was kan blijken uit het volgende:

Met onverzadigd antiserum gaf sap van *virus b*-zieke chrysantenbladeren een duidelijk positieve precipitatiereactie, nog tot in een antiserumverdunding van 1:32. Met onverzadigd antiserum gaf gezond sap nog een reactie bij een verdunding van het antiserum van 1:8.

Met verzadigd antiserum precipiteerde ziek sap tot een antiserumverdunding van 1:32. Een verzadiging van het antiserum met 7 delen gezond sap bleek voldoende om in de contrôles met gezond sap geen vlokkingen meer te doen ontstaan. Bij een verzadiging van het antiserum van 1:3 echter, waren de ongewenste antilichamen blijkbaar nog niet uit het antiserum verdwenen.

Door het optreden van spontane vlokkingen of het zonder meer achterwege blijven van een reactie, was (evenals bij *Cucumis virus 1 st. Chr.*) het niet steeds mogelijk de gewenste resultaten te verkrijgen.

VI. STUNTVIRUS

Zoals in het literatuuroverzicht werd uiteengezet (p. 129), is de laatste jaren in de Ver. Staten van Amerika veel aandacht besteed aan een virusziekte in chrysanten „*stunt*” genaamd. Daar deze ziekte stellig ook in Nederland verwacht kon worden en een vergelijking van deze ziekte met de reeds in Nederland aangetroffen virusziekten nuttig kon zijn, werd met dit virus ook enig onderzoek verricht.

Door PH. BRIERLEY (Beltsville, Maryland, Ver. St. v. Amerika) werd mij, op mijn verzoek, door stunt aangetast chrysantenmateriaal verschaft¹⁾. De ontvangen gezonde en door *stuntvirus* aangetaste stekken van *Chrysanthemum indicum* Mary Mac Arthur en Mistletoe, werden verder gekweekt en met elkaar vergeleken.

Groeiremmingen, bij Mistletoe, gele vlekken op de bladeren, zoals in de literatuur wordt beschreven (zie literatuuroverzicht p. 129), konden bij de zieke planten worden waargenomen. Daar de ziekteverschijnselen van stunt moeilijk zijn te identificeren (op grond van groeiremming alleen is niet met zekerheid tot aanwezigheid van stunt te besluiten) is in het volgend onderzoek door mij gezocht naar een geschikte toetsmethode, daarbij gebruik makend van ervaringen die door onderzoekers al eerder bij dergelijk onderzoek zijn opgedaan, BRIERLEY & SMITH (1951 a).

Twee methoden van onderzoek zijn gevolgd, n.l. sapinoculatie en enting.

A. SAPINOCULATIE OP TOETSPLANTEN

Parallel met het testen van plantensoorten door sapinoculatie met *Cucumis virus 1 st. Chr.* en *virus b*, zijn op dezelfde wijze als beschreven is op p. 132 inoculaties uitgevoerd met sap van de bovengenoemde chrysanten, die door stunt waren aangetast.

Op geen der getoetste planten, die hieronder worden genoemd, zijn echter ziekteverschijnselen waargenomen:

Adonis aestivalis, *Ageratum mexicanum*, *Antirrhinum maximum*, *Calendula officinalis*, *Calliopsis lanceolata*, *Chrysanthemum carinatum*, *C. indicum* (zaailingen), *C. leucanthemum*, *C. segetum*, *Doronicum caucasicum*, *Gaillardia grandiflora*, *Helianthus annuus*, *Helichrysum bracteatum*, *Iberis coronata*, *Matricaria eximia*, *Nicotiana tabacum*, *N. glutinosa*, *Papaver nudicaule*, *Petunia hybrida*, *Senecio cruentus*, *Tagetes patula*, *Tropaeolum majus* en *Zinnia elegans*.

Daar *Senecio cruentus* (Cineraria) in de literatuur geschikt genoemd werd om als toetsplant gebruikt te worden, BRIERLEY (1950) (later spreken BRIERLEY & SMITH (1951 a) deze mededeling weer tegen), zijn met verschillende variëteiten van deze plant talrijke proeven gedaan. In totaal werden 150 planten geïnoculeerd, maar slechts éénmaal werd groeiremming en nerfnecrose waargenomen; aangezien deze verschijnselen naderhand nooit meer optraden, kan deze reactie moeilijk als typisch voor het *stuntvirus* beschouwd worden.

¹⁾ I am much indebted to MR PH. BRIERLEY for sending me this plant-material.

Dat het niet eenvoudig is een toetsplant voor *stuntvirus* te vinden blijkt ook uit het onderzoek van KELLER (1950); geen van de 90 door hem onderzochte plantensoorten vertoonde een reactie na sapinoculatie met *stuntvirus*.

B. ENTINGEN MET CHRYSANTHEMUM INDICUM VARIËTEITEN

Aangezien geen toetsplant gevonden werd, waarop het *stuntvirus* aangetoond kon worden, is een andere weg ingeslagen om te trachten het *stuntvirus* te identificeren. Hiertoe zijn entingen verricht met de chrysantenvariëteit Blazing Gold, waarmee volgens BRIERLEY & SMITH (1951^a) *stuntvirus* is aan te tonen. Wordt volgens deze auteurs op een gezonde plant van Blazing Gold met behulp van spleetenting een stunt-zieke ent gezet, dan vertonen de naderhand uitlopende scheuten van deze plant, 6 weken na de enting, lichtbegrensde nerven en een naar beneden omkrullen der bladranden.

Na spleetenting van stunt-zieke Mary Mac Arthur op Blazing Gold, werden 5 weken later inderdaad de verschijnselen bij Blazing Gold waargenomen, die BRIERLEY & SMITH beschrijven, terwijl daarentegen bij enting van gezonde Mary Mac Arthur, de bladeren van Blazing Gold normaal van kleur en vorm bleven.

Met deze methode werd nu bij een aantal viruszieke chrysanten, die indertijd niet door *Cucumis virus 1 st. Chr.* of *virus b* bleken aangetast te zijn, stunt geconstateerd. (Clara Holford, Indianapolis Yellow en Pink Long Island Beauty).

De vraag rees of de Blazing Gold-entmethode ook bruikbaar is om *stuntvirus* aan te tonen, wanneer in de te onderzoeken plant ook nog andere viren aanwezig zijn. Ter beantwoording van deze vraag zijn op 35 Blazing Gold onderstammen enten gezet van chrysanten bij welke door inoculatie op toetsplanten was vastgesteld dat *Cucumis virus 1 st. Chr.* of *virus b* aanwezig was. Bij de uitgroeiende Blazing Gold scheuten waren de verschijnselen zeer verschillend. Na 1 tot 2 maanden waren soms lichtbegrensde nerven te zien, soms trad een mozaïek op, meestentijds zwak, maar toch ook wel eens zeer duidelijk en dan gepaard gaande met enige necrose. Soms waren in het geheel geen verschijnselen aanwezig.

Deze zo sterk uiteenlopende beelden maken het voorlopig niet mogelijk om met de Blazing Gold-entmethode *stuntvirus* aan te tonen in planten, die reeds door *Cucumis virus 1 st. Chr.* of *virus b* zijn aangetast.

VII. VIRUS C

In één plant van de chrysantenvariëteit *Samaria* trad een ziektebeeld op van mozaïek en kringen op de bladeren en enigszins verfrommelde bloemlinten, dat veroorzaakt werd door een virus dat in zijn reactie op toetsplanten afweek van *Cucumis virus 1 st. Chr.* en *virus b.*

Op de geïnoculeerde bladeren van *Petunia hybrida nana compacta* „Celestial” werden 2 weken na de sapinoculatie necrotische vlekjes en zeer karakteristieke ringen zichtbaar, die dikwijls concentrisch waren. Ook in de volgende weken ontstonden nog nieuwe ringen. Op de niet geïnoculeerde bladeren ontstonden geelwitte lijntjes, die dikwijls ringen vormden, maar vaak ook grillig en scherp-hoekig gerangschikt waren.

Ook op *Nicotiana glutinosa* en *N. tabacum* ontstond een reactie op geïnoculeerde bladeren, die echter weinig typisch was en veel minder sprekend dan bij *Petunia*.

Verder onderzoek werd met deze ziekte niet verricht, zodat het niet mogelijk is met deze karige gegevens het virus te identificeren.

VIII. LYCOPERSICUM VIRUS 3 (TOMATO SPOTTED WILT VIRUS)

Het wekt bevreemding dat *Lycopersicum virus 3* in Nederland nooit op chrysanten werd aangetroffen, terwijl bijvoorbeeld in Engeland de chrysant als een belangrijke waardplant van dit virus beschouwd wordt. Wel komt dit virus in Nederland op vele andere gewassen voor. De in de literatuur genoemde karakteristieke kenmerken op de bladeren (zie literatuuroverzicht p. 127) zoals ringen en lijnen, werden door mij nooit waargenomen, en bronskleur en necrose die wel een enkele keer werden geconstateerd, bleken niet door *Lycopersicum virus 3* veroorzaakt te zijn.

De mogelijkheid bleef bestaan, dat het virus wel voorkwam, maar door omstandigheden op toetsplanten geen reactie wilde veroorzaken, een verschijnsel waarop AINSWORTH (1936) gewezen heeft.

Om meer inzicht te krijgen in de verschijnselen die *Lycopersicum virus 3* op chrysanten veroorzaakt en om na te gaan of dit virus inderdaad moeilijk op toetsplanten is over te brengen, zijn jonge planten van chrysanten-zaailingen en gestekte planten van bestaande variëteiten, in Januari 1952 geïnoculeerd met sap van *Nicotiana tabacum*, die na inoculatie met sap van *Campanula isophylla* verschijnselen van *Lycopersicum virus 3* vertoonde.

Slechts één van de 16 geïnoculeerde chrysanten liet duidelijk een reactie zien, namelijk op een geïnoculeerd blad, een bruine, necrotische ring. Op de niet geïnoculeerde bladeren werden geen verschijnselen waargenomen.

Niet geïnoculeerde bladeren van de enige chrysant die een reactie vertoonde, werden samen met Natriumsulfiet ($\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 1 : 100 uitgeperst en geïnoculeerd op 5 planten van *Petunia hybrida* en 5 van *Nicotiana tabacum*. Op 3 der *Petunia*-planten en op alle 5 planten van *Nicotiana tabacum* werd een zeer duidelijke reactie van *Lycopersicum virus 3* waargenomen. Twee van de 15 niet reagerende chrysantenplanten werden op dezelfde wijze als de viruszieke plant op hun reactie getoetst, waarbij bleek dat geen virus in deze planten aan te tonen was. Zie voor het ziektebeeld op deze toetsplanten NOORDAM (1952 b).

De duidelijke reactie, die met de ene chrysant op toetsplanten verkregen werd, bewijst dat het wel degelijk mogelijk is *Lycopersicum virus 3* uit chrysant op toetsplanten over te brengen en tevens dat, althans het *Lycopersicum virus 3* afkomstig uit *Campanula isophylla*, niet in de door mij onderzochte van nature zieke chrysanten voorkwam.

Een grondiger onderzoek, waarbij ook rekening gehouden moet worden met de mogelijkheid dat uiteenlopende stammen van *Lycopersicum virus 3* zouden kunnen voorkomen, zal wellicht kunnen aantonen, waarom dit virus nooit werd aangetroffen.

IX. CONCLUSIES VOOR DE PRACTIJK VAN DE TUINBOUW

In dit onderzoek kon worden aangetoond dat zeer veel chrysantenplanten met groeiremming (Fig. 23), vlekkerige bladeren, miskleurige en verfrommelde bloemen (Fig. 1-19) door virusziekten zijn aangetast. Doordat iedere plant afzonderlijk was gemerkt, kon vastgesteld worden dat planten met slechte, viruszieke bloemen altijd een nakomelingschap gaven van dezelfde slechte kwaliteit. Het aanhouden van planten als moerplant, waarin men virusziekte heeft geconstateerd, is steeds zeer sterk af te raden en speciaal in de stekhandel niet te verantwoorden, daar de afnemer de slechte kwaliteit van het stek vrijwel nooit kan vaststellen.

Nu is het vaak moeilijk om viruszieke planten te herkennen. Vele zieke planten zijn slechts bij zeer scherpe waarneming van gezonde te onderscheiden. In dergelijke twijfelgevallen is het mogelijk gebleken binnen 2-6 weken uit te maken of een plant ziek is of niet, door sap van de verdachte plant op andere plantensoorten (toetsplanten) over te brengen. Bovendien kan door middel van een serologische methode voor 2 van de 3 belangrijkste viren in één dag worden aangetoond dat een chrysant virusziek is, al moet deze methode voor geregelde toepassing nog verder worden uitgewerkt. Met het derde belangrijke virus (Stunt) werd nog geen serologisch onderzoek verricht.

Dit aantonen van virusziekte in een plant, volgens de beide bovengenoemde methoden, is zeer tijdrovend en kan daarom in de toekomst alleen toegepast worden, indien de zekerheid bestaat dat de kweker alles in het werk stelt om zijn chrysanten zo gezond mogelijk te krijgen.

Hij zal in *de eerste plaats* geen planten die tijdens groei of bloei ziekteverschijnselen vertonen of vertoond hebben, als moerplanten mogen gebruiken. Want indien van een zieke moerplant stekken worden genomen, zullen deze stekken, ook al zien ze er nog zo mooi uit, naderhand tot planten met waarde-loze bloemen uitgroeien.

Ten tweede zal hij rekening moeten houden met het feit, dat de virusziekten, die reeds in zijn gewas aanwezig zijn, door overbrenging van sap, d.w.z. door aanraking met de hand op gezond materiaal kunnen worden verspreid.

Daar voor een van de meest voorkomende viren overbrenging door blad-luizen werd aangetoond, is het *in de derde plaats* gewenst het gewas zoveel mogelijk luisvrij te houden.

Hoewel in de praktijk van de tuinbouw in Nederland het geval nog niet bekend is, dat chrysanten door andere viruszieke plantensoorten werden besmet, willen wij toch op de mogelijkheid wijzen dat uit andere cultures, de virusziekten op het chrysantengewas zouden kunnen overgaan. In dit onderzoek zijn namelijk talrijke plantensoorten genoemd, die door chrysantenviren kunnen worden aangetast. Omgekeerd zou het ook mogelijk kunnen zijn dat een ziek chrysantengewas planten van een andere cultuur besmet.

Het is hier niet de plaats een gedetailleerde opsomming te geven van de maatregelen die de kweker dient te nemen om de virusziekten zo effectief mogelijk te bestrijden. De ervaring bij anjers heeft geleerd dat op geen manier een zó in-

tensieve bestrijding van ziekten met een zó duidelijk zichtbaar resultaat wordt verkregen, als door het werk van een keuringsdienst. Deze keuringsdienst geeft voorlichting, hoe en in welke tijd van het jaar de virusziekten het beste zijn te herkennen en te bestrijden, en voorkomt ook dat de kweker minderwaardig plantgoed aanschaft.

Een dergelijke keuringsdienst voor chrysanten zou de schade door virusziekten aan de chrysantenteelt te weeg gebracht mijns inziens op de snelste manier kunnen beperken.

SUMMARY

VIRUS DISEASES OF CHRYSANTHEMUM INDICUM IN THE NETHERLANDS

Since 1945 there has been a serious increase in virus diseases of *Chrysanthemum indicum* in the Netherlands; this is attributed to the importation of new varieties from England and, to a lesser degree, from the United States of America.

The symptoms of nearly 400 virus-diseased plants, belonging to 116 varieties, were studied. At the same time indicator plants were used to determine which viruses were present in these diseased plants (p. 140, 168). Two viruses were found to occur very frequently, viz. a strain of *Cucumis virus I*¹), here called *Cucumis virus I st. (rain) Chr. (ysanthemum)*, and an unknown virus that has been referred to as *virus b*. Besides these, *stunt virus* was also found, though much less frequently; a fourth virus, referred to as *virus c*, was found in one chrysanthemum only.

The symptoms caused by the viruses on certain varieties are described (p. 133).

Chrysanthemums affected with *Cucumis virus I st. Chr.* always showed symptoms of disease. Varieties are mentioned (p. 137) which showed symptoms both in leaf and flower (1a); others which showed symptoms in the flower only (1b) and a number which showed symptoms on the leaves, but whose flowers were not examined (1c).

Virus b was found in chrysanthemums, both with and without symptoms (p. 137). A number of varieties showed abnormalities in leaf and flower (2a); others showed abnormalities in the flower only, not in the leaf (2b); others again showed abnormalities in the leaf, but not in the flower (2c); whereas a number showed no symptoms at all (2d). In the variety Miss Wilcox, plants occurred with reddish-brown, yellow-striped and yellow flowers, all of which were infected with *virus b*; since the progenies of these 3 colour-forms remained constant, it is suggested that there are different strains of *virus b*, differing in the intensity with which they affect the plants.

For some remarkable virus symptoms lists are given of the chrysanthemum varieties in which these symptoms were observed. After each variety in brackets is given whether *Cucumis virus I st. Chr.* (abbreviated: Cu.), *virus b* (abbreviated: b), or *stunt virus* (abbreviated: st.) was found, or whether the cause of the disease remained unknown (denoted as: ?) (p. 138).

These symptoms observed were stunting of the plant (1), mosaic mottling of the leaves (2a), circular patterns (2b), necrotic spots (2c), necrotic rings (2d), and malformation of the leaf (3). In chrysanthemums with red, bronze or brown flowers the colour of virus-diseased flowers was often partly or entirely yellow (4a); violet-red, light-red or pink flowers became white-spotted or entirely white (4b); yellow flowers seldom showed discolorations and white flowers never (4c, no varieties mentioned). Often the ligules were of unequal length (5).

¹) Following the nomenclature in K. M. SMITH: A textbook of plant virus diseases, 1937.

I. *Cucumis virus st. Chr.* could be transmitted by sap-inoculation to 16 out of 35 species of plants (p. 140 to p. 144). Of these, *Nicotiana glutinosa*, *N. tabacum* and *Petunia hybrida nana compacta* could be used very well as indicator plants. A short description of the symptoms on *N. tabacum* (Fig. 22) and *N. glutinosa* (Fig. 26) is also given in Table 9 (p. 163). The strain of the virus that occurs in chrysanthemum differs from the „type” of *Cucumis virus 1*, among other ways, in that it seldom causes a reaction on gherkin (at most a local reaction on the cotyledons), and because it causes severe malformation and narrowing of the leaves of *Nicotiana glutinosa* (Fig. 26) and *Petunia hybrida* (Fig. 24, for flower see fig. 25). The species of plants that showed no reaction are mentioned on p. 144.

Sap from tobacco leaves inoculated with *Cucumis virus 1 st. Chr.* still gave a reaction on *Nicotiana tabacum* at a dilution of 10^{-5} or 10^{-6} in the winter months, and of 10^{-3} to 10^{-4} at other times of the year (Table 1, p. 148).

It will be seen from Table 2 (Experiment 5, p. 149) that tobacco sap may be diluted ten times and still give as strong a reaction as chrysanthemum sap.

The sap was still infectious after heating for ten minutes at 65 °C, but not after heating at 70 °C (Table 3, p. 150). At 50 °C some inactivation took place (Table 4, p. 151).

Sap that was kept at 23 ° to 25 °C was sometimes still infectious after 12 hours; in other cases the virus has already lost its infectivity within 2 hours.

On two occasions centrifuging sap for 75 minutes at 3000 r.p.m. and then precipitating with ammonium sulphate (25 g per 100 ml) gave good results in purifying the virus, but this method failed on three other occasions. In two of the experiments it appeared that the purification failed because of sedimentation of the virus from the crude expressed sap during centrifugation.

Electron micrographs were made of expressed crude sap after purification or only centrifugation, as well as of bleeding sap (JOHNSON 1951). These electron micrographs revealed the presence of more or less round particles of different sizes (20–150 μ). The bigger particles apparently are aggregated of smaller ones; the biggest particles are flattened (Fig. 27 and 28). This aggregation of particles can be held responsible for the sedimentation of the virus during centrifugation. The specimens of healthy sap revealed, in a much lesser number than the specimens of diseased sap, the presence of some more or less round particles of a diameter of 75 μ at most.

With an antiserum prepared by VAN DER WANT according to a method described by BEEMSTER & VAN DER WANT (1951), the presence of the virus could be demonstrated in diseased plants of *Nicotiana tabacum* and *Chrysanthemum indicum* by a microprecipitation reaction. Antiserum saturated with 3 or 7 parts of healthy sap still gave a reaction with diseased sap at a dilution of 1:32. Antiserum saturated with 1 part of healthy sap, precipitated with healthy sap occasionally, but never when saturated with 3 or 7 parts (Table 5, p 157). The reaction was not always reliable, for sometimes it was obscured by spontaneous precipitation and sometimes no reaction occurred (possibly in consequence of sedimentation during centrifugation).

By means of a micro-agglutinationreaction *Cucumis virus 1 st. Chr.* could be demonstrated in tobaccosap (Table 6, p. 159), but not in sap of *Chrysanthemum indicum*. At an end dilution of the saturated antiserum of 1:500 a positive reaction was still obtained. Also the yellow strain of *Cucumis virus 1*, No 6 of

PRICE, gave a positive agglutination reaction with the antiserum of *Cucumis virus 1 st. Chr.* (Table 7, p. 160), so that the two viruses proved to be serologically related.

Aphides of the species *Myzus persicae* were able to transmit the virus to healthy plants after only 2 minutes' feeding on a diseased plant (Table 8, p. 162).

By means of the premunity-principle (acquired immunity), also, the relationship was demonstrated between the virus of chrysanthemum and (1) the yellow strain of *Cucumis virus 1*, No 6 of PRICE, and (2) gherkin mosaic virus, a strain of *Cucumis virus 1*. The symptoms of these 3 viruses on *Nicotiana glutinosa* (Fig. 26) and *N. tabacum* are given in Table 9 (p. 163). As a rule, the 3 viruses protected the plants against a later infection with any of these viruses (Tables 10 and 11, p. 164 and 165).

Because of the cross-protection (premunty), together with the serological „relationship reaction" and the similarity between the symptoms of the chrysanthemum virus and those of *Cucumis virus 1* on certain indicator plants, the chrysanthemum virus under discussion may be taken for *Cucumis virus 1* – though because of different reactions on a few indicator plants it may be best to regard it as a distinct strain. The *Cucumis virus 1 st. Chr.* differs from the aspermy virus, as described in literature, in this respect that the aspermy virus fails to protect against strains of *Cucumis virus 1*, BLENCOWE & CALDWELL (1949), BRIERLEY & SMITH (1951 b).

That the *Cucumis virus 1 st. Chr.* may be held responsible for the origin of discoloured and crumpled flowers such as they occur in the naturally diseased plants, was proved by sap inoculation on some chrysanthemum varieties (Prélude and Royal Bronze, figs. 12 and 23).

Since the plants used for this experiment already contained *virus b* (without showing symptoms on the leaves of the flowers, figs. 13 and 23 on the left) it is, however, not impossible that the symptoms observed, only appear in the presence of the complex *Cucumis virus 1 st. Chr.* and *virus b*.

II. *Virus b*. Seven out of 31 plant species gave a reaction after sap-inoculation with *virus b* (p. 168) *Petunia hybrida nana compacta* appeared to be a useful indicator plant (local reaction 3 weeks after sap inoculation, figs. 20 and 21) provided *Cucumis virus 1 st. Chr.* was not also present in the plant to be tested. The local reaction on *Helichrysum bracteatum monstrosum* is typical (Fig. 29, p. 169), but it often fails to develop. Exceptionally a faint local reaction was found on *Nicotiana glutinosa*. Transmission of the virus to *Nicotiana tabacum* always failed. The plant species listed on p. 170 gave no reaction.

The dilution end-point and the inactivation of the virus by ageing were tested in summer only; because of the low infectivity of the virus at this season of the year, they could not be determined very well.

The virus was inactivated by heating for 10 minutes between 70 ° and 80 °C in the winter months; at other times of the year, however, it was inactivated between 50 ° and 70 °C (Table 12, p. 172). The infectivity of expressed sap heated with Na₂SO₃ increased, until a sudden fall occurred at 60 ° or 70 °C.

Purification of *virus b* by centrifuging and precipitation with ammonium sulphate proved to be impossible (Table 13, p. 174); it was sometimes possible, however, when alcohol instead of ammonium sulphate was used (Table 14, p. 175).

The presence of *virus b* in diseased chrysanthemums could be demonstrated

by means of the precipitin reaction. The antiserum was prepared by VAN DER WANT. Diseased sap gave a positive precipitation-reaction with antiserum saturated with 7 parts of chrysanthemum sap. A positive result could be obtained even with antiserum diluted 1:32.

Using the electron microscope, rod-shaped particles of about $600 \times 30 \text{ m}\mu$ (not present in healthy sap) were found, which may be considered as possibly being the *virus b*-particles.

III. *Stunt*. The most typical symptoms of stunt disease were stunting of the plant and sometimes light-green or yellowish spots on the leaves (Fig. 16). Stunt virus, inoculated by means of sap on 23 plant species, failed to give any reaction (p. 177). Stunt could be demonstrated in the varieties Clara Holford, Indianapolis Yellow and Pink Long Island Beauty by grafting a diseased scion of these varieties on to the healthy chrysanthemum variety Blazing Gold (method of BRIERLEY and SMITH 1951 a). If *Cucumis virus 1 st. Chr.* and *virus b* were also present in the diseased plant, this method could not be used.

IV. *Virus c* (an unknown virus), which was found in one plant only, could be transmitted to *Petunia*, among other plant species. Two weeks after inoculation circular spots appeared on the leaves. This virus has been insufficiently tested as yet.

*Lycopersicum virus 3*¹⁾ (tomato spotted wilt) has not yet been found on chrysanthemum in Holland, but could be transmitted to chrysanthemum.

¹⁾ Following the nomenclature in K. M. SMITH: A textbook of plant virus diseases, 1937.

GERAADPLEEGDE LITERATUUR

- AINSWORTH, G. C. — 1933. Spotted wilt of tomatoes. Rep. Exp. Sta. 1932: 39–42.
- 1936. Detection of spotted wilt in chrysanthemums. Nature 137: 868.
- 1937. Virus diseases, ornamental plants. Rep. Exp. Res. Sta., Cheshunt. 1936: 60–62.
- 1938. A note on certain viruses of the cucumber virus 1 type isolated from monocotyledonous plants. Ann. appl. Biol. 25: 867–869.
- 1939. Virus diseases, Chrysanthemum. Rep. Exp. Res. Sta. Cheshunt. 1938: 60.
- ALGERA, L., T. H. THUNG & J. P. H. VAN DER WANT — 1947. Over het zuiveren van plantenviren. T. Plziekten 53: 133–139.
- ANDERSON, C. W. — 1951a. Some preliminary observations on cucurbit viruses in Florida. Plant Dis. Rep. 35: 233–234.
- 1951b. Further observations of some cucurbit viruses from central Florida. Plant Dis. Rep. 35: 396–398.
- ANONYMUS — 1948. Big bud disease of tomatoes. Gard. Chron. 123: 205.
- ANONYMUS—1949. Plant diseases, spotted wilt of ornamental plants. J. Dep. Agr. Vict. Australia 47: 230–232.
- ANONYMUS—1951a. Signs of chrysanthemum virus. The Grower 36: 1190–1191.
- ANONYMUS—1951b. In: Nachr. Bl. dtsh. Pflanzenschutzdienst. 3: 157.
- BAKER, K. F., L. H. CLARK & M. H. KIMBALL—1949. Association of Deuterophoma spp. with a chrysanthemum stunt disease in California. Plant. Dis. Rep. 33: 2–8.
- BALD, J. G. & G. SAMUEL — 1931. Investigations on spotted wilt of tomatoes II Council sci.a. industr. Res. Melbourne. Bul. 54: 1–24.
- BAWDEN, F. C. — 1934. Studies on a virus causing foliar necrosis of the potato. Proc. Roy. Soc. Lond. B, 116: 375–395.
- 1950. Plant viruses and virus diseases. Waltham. Mass. U.S.A.
- BAWDEN, F. C. & H. L. NIXON — 1951. The application of electron microscopy to the study of plant viruses in unpurified plant extracts. J. gen. Microbiol. 5: 104–109.
- BEEMSTER, A. B. R. & J. P. H. VAN DER WANT — 1951. Serological investigations on the Phaseolus viruses 1 and 2. Ant. Leeuwenhoek. 17: 285–296.
- BEWLEY, W. F. & A. A. RICHARDS — 1951. Mosaic disease of the Chrysanthemum. Gard. Chron. 129: 20.
- BHARGAVA, K. S. — 1951. Some properties of four strains of cucumber mosaic virus. Ann. appl. Biol. 38: 377–388.
- BIRKELAND, J. M. — 1934. Serological studies of plant viruses. Bot. Gaz. 95: 419–436.
- BLENCOWE, J. W. & J. CALDWELL — 1946. A new virus disease of tomatoes. Nature, Lond. 158: 96–97.
- 1949. Aspermy, a new virus disease of the tomato. Ann appl. Biol. 36: 320–326.
- BOOIJ, H. L., M. P. DE BRUYN OUBOTER, M. C. CREMER & E. VAN SLOGTEREN — 1944. Verslag van het serologisch onderzoek betreffende de vergelingsziekte der suikerbieten. Med. Inst. Rationele Suikerproductie Bergen op Zoom. 14: 1–28.
- BRIERLEY, P. — 1950. Some host plants of chrysanthemum stunt virus. Abs. Phytopath. 40: 869.
- BRIERLEY, P. & F. F. SMITH — 1949. Evidence points to virus as cause of chrysanthemum stunt. Flor. Rev. 103 (2676): 36–37.
- 1951a. Chrysanthemum stunt. Flor. Rev. 107 (2778): 27–30.
- 1951b. Survey of virus diseases of chrysanthemums. Plant. Dis. Rep. 35: 524–526.
- BRUYN OUBOTER, M. P. DE, J. J. BEIJER & E. VAN SLOGTEREN — 1951. Diagnosis of plant diseases by electron microscopy. Ant. Leeuwenhoek (J. Microbiol. a. Serology) 17: 189–208.
- CHAMBERLAIN, E. E. — 1939. Cucumber mosaic (Cucumis virus 1 of Smith 1937) New Zealand J. Sci. a. Techn. 21 (2A): 73A–90A.
- CHESTER, K. S. — 1937. Serological studies of plant viruses. Phytopath. 27: 903–912.
- DIMOCK, A. W. — 1947. Chrysanthemum stunt. New York St. Flow. Grow. Bull. 26: 2.
- DOOLITTLE, S. P. — 1920. The mosaic disease of cucurbits. U.S. Dep. Agr. Washington Bull. 879: 1–69.

- FAAN, H. C. & J. JOHNSON – 1951. Strains of the cucumber mosaic virus. Abs. Phytopath. 41: 11.
- FULTON, J. P. – 1950. Studies on strains of cucumber virus 1 from spinach. Phytopath. 40: 729–736.
- GARDNER, M. W. & O. C. WHIPPLE – 1934. Spotted wilt of tomatoes and its transmission by thrips. Abs. Phytopath. 24: 1136.
- GIDDINGS, N. J. – 1938. Studies of selected strains of curly-top virus. J. Agr. Res. Washington. 56: 883–894.
- 1940. Curly-top virus strains. Abs. Phytopath. 30: 786.
- 1941. Strain combinations of curly-top virus. Abs. Phytopath. 31: 8.
- GRANCINI, P. & F. CESARONI – 1950. Alcune osservazioni sul „fern leaf” del pomodoro in Italia. Notiz. Malatt. Piante (8): 53–57.
- HARTER, L. L. – 1938. Mosaic of lima beans (*Phaseolus lunatus macrocarpus*). J. Agr. Res. Washington 56: 895–906.
- HILL, A. V. – 1943. Insect transmission and host plants of virescence (Big bud of tomato). J. Council sci. a. industr. Res. (Aust.) 16: 85–90.
- HOLMES, F. O. – 1934. A masked strain of tobacco-mosaic virus. Phytopath. 24: 845–873.
- JOHNSON, E. M. & W. D. VALLEAU – 1935. Susceptibility of tobacco plants visibly affected with mild tobacco mosaic to other strains of the virus. Kentucky agr. Exp. Stat. Bull. 360: 192–201.
- JOHNSON, J. – 1951. Virus particles in various plant species and tissues. Phytopath. 41: 78–93.
- JONES, L. K. – 1942. Diseases of greenhouse plants. State College of Washington Agr. Exp. Stat. Pullman, 52 Am. Rep. Bull. 425: 73.
- KELLER, J. R. – 1949. Chrysanthemum stunt, its nature and spread. Flor. Exch. 113(16): 58.
- 1950. New virus complex of chrysanthemums. New York St. Flow. Grow. Bull. 62: 2–5.
- KOHL, H. C., A. M. KOFRANEK, K. POST & F. HORTON – 1950. No easy way out of chrysanthemum stunt. New York St. Flow. Grow. Bull. 57: 4–6.
- KÖHLER, E. – 1935. Übertragungsversuche mit dem Virus der Lupinenbräune. Angew. Bot. 17: 277–286.
- KUNKEL, L. O. – 1926. Studies on aster yellows. Am. J. Bot. 13: 646–705.
- 1934. Studies on acquired immunity with tobacco and aucuba mosaics. Phytopath. 24: 437–466.
- MIKKELSEN, J. – 1950. A practical method of elimination of chrysanthemum stunt. Ohio Flor. Bull. Febr.: 29–30.
- NELSON, R. – 1925. Chrysanthemum yellows, a new disease in the greenhouse. Michigan agr. exp. Stat. quart. Bull. 7: 157–160.
- NIENOW, J. – 1948. The identification and characterization of a virus causing mosaic in *Mertensia virginica*. Phytopath. 38: 62–69.
- NOORDAM, D. – 1950. Chrysanten, virusziekte. Jaarversl. Proefstat. Bloem. Ned. Aalsmeer, 1949: 41–42.
- 1951a. Chrysant, virusziekten. Jaarversl. Proefstat. Bloem. Ned. Aalsmeer, 1950: 24–25.
- 1951b. Virusziekten in chrysanten. Vakbl. Bloem. 6: 298.
- 1952 a. Chrysant, virusziekte. Jaarversl. Proefstat. Bloem. Ned. Aalsmeer, 1951: 29–30.
- 1952 b. *Lycopersicum* virus 3 (Tomato spotted wilt) bij enkele bloemisterij gewassen. T. pl. ziekten 58: 89–96.
- NOORDAM, D. & A. G. A. v. D. NES – 1949. Een en ander over virusziekten in chrysanten. Vakbl. Bloem. 4: 362.
- OGILVIE, L. – 1934. Spotted wilt of tomatoes and its control. Ann. Rep. agr. hort. Res. Stat. Long Ashton, Bristol.: 170–174.
- OLSON, C. J. – 1949. Possibilities of 100 per cent stunt free stock. Flor. Exch. 113 (20): 19, 32, 33.
- POST, K. – 1948. Marginal lighting for identifying chrysanthemum stunt. New York St. Flow. Grow. Bull. 31: 3–5.
- PRICE, W. C. – 1934. Isolation and study of some yellow strains of cucumber mosaic. Phytopath. 24: 743–761.
- 1935a. Acquired immunity from cucumber mosaic in *Zinnia*. Phytopath. 25: 776–789.
- 1935b. Classification of southern celery-mosaic virus. Phytopath. 25: 947–954.
- 1937. Classification of lily-mosaic virus. Phytopath. 27: 561–569.
- 1939. Cross protection tests with two strains of cucumber-mosaic virus. Phytopath. 29: 903–905.

- . 1940. Acquired immunity from plant virus diseases. *Quart. Rev. Biol.* 15: 338–361.
- POUND, G. S. & J. C. WALKER – 1948. Strains of cucumber mosaic virus pathogenic on crucifers. *J. agr. Res.* 77: 1–12.
- QUANJER, H. M. – 1942. Phytopathologische terminologie, met speciale bespreking van de begrippen biotrophie, premunitie en antistoffen. *T.pl.ziekten* 48: 1–16.
- SALAMAN, R. N. – 1938. The potato virus X: its strains and reactions. *Philos. Trans. Roy. Soc. Lond. B.* 559: 137–217.
- SELMAN, J. W. – 1940. A virus disease of Chrysanthemum. *Rep. Exp. Sta. Cheshunt* 1939: 36–37.
- SEVERIN, H. H. – 1934. Transmission of California aster and celery yellows virus by three species of leafhoppers. *Hilgardia* 8: 339–361.
- SILL, W. H., Jr., W. C. BURGER, M. A. STAHMANN & J. C. WALKER – 1952. Electron microscopy of cucumber virus 1. *Abs. Phytopath.* 42: 19–20.
- SMITH, K. M. – 1935. Some diseases of ornamental plants. *J. Roy. hort. Soc.* 60: 304–310.
- . 1936. The virus diseases of glasshouse and garden plants. *Sci. Hort.* 5: 126–140.
- . 1937. A textbook of plant virus diseases. J. & A. Churchill, London.
- . 1946. Virus diseases of farm and garden crops. Littlebury & Co., Worcester.
- . 1949. Viruses and virus diseases. *J. Roy. hort. Soc.* 74: 482–491, 521–528.
- . 1951. Recent advances in the study of plant viruses. J. & A. Churchill, London.
- . 1952. Some garden plants susceptible to infection with the cucumber mosaic virus. *J. Roy. hort. Soc.* 70: 19–21.
- THUNG, T. H. – 1937. Smetstof en plantencel bij enkele virusziekten van de tabaksplant. III. *T.pl.ziekten* 43: 11–32.
- . 1938. Smetstof en plantencel bij enkele virusziekten van de tabaksplant. IV. *T. pl.-ziekten* 44: 225–246.
- . 1939. Smetstof en plantencel bij enkele virusziekten van de tabaksplant. V. *T. pl.-ziekten* 45: 247–259.
- . 1948. Waarnemingen over enkele plantenviren met het electronen-microscop. *Chronica Naturae* 104: 344–348.
- . 1949. Grondbeginselen der plantenvirologie. H. Veenman & Zonen, Wageningen.
- TJALLINGII, F. – 1949. Virusziekten van komkommerachtige gewassen, in het bijzonder van augurken. *Med. Dir. Tuinbouw* 12: 584–593.
- WEISS, F. – 1948. Check list revision. *Plant. Dis. Rep.* 32: 144–157.
- WELSH, M. F. – 1948. Stunt-mottle virus disease of chrysanthemum. *Sci. Agr.* 28: 422.

VIRUSZIEKTEN BIJ CHRYSANTEN (CHRYSANTHEMUM INDICUM)

Virus diseases in Chrysanthemum indicum

Bij elke afbeelding is aangegeven welk virus in de betreffende plant werd aangetroffen,
nl. Cucumis virus 1st. Chr. (afgekort Cu.), b of stunt.

*At every picture is recorded what virus was found in the plant in question, namely
Cucumis virus 1st. Chr. (abbreviated Cu.), b or stunt.*

CRIMSON CROWN



1

Normale bloem van gezonde plant
Normal flower of healthy plant



2

Virus Cu., bloem gee.gestreept
flower yellow-striped



3

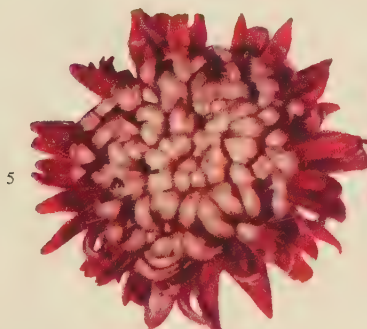
Virus Cu. op/on SMILES
gele strepen vooral
langs de bladrand
*yellow streaks, especially
near the margin of the leaf*

Virus Cu. op/on SMILES
geelwitte banden
en kringen
*yellowish-white bands
and rings*



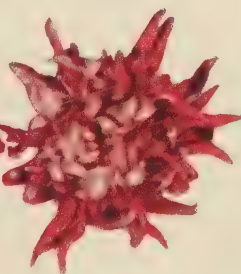
4

DEUIL DE LOUIS BARTHOUS



5

Virus b, bloem normaal, als van gezonde plant
flower normal as from a healthy plant



6

Virus Cu., bloem klein en verfrommeld
flower small and crumpled



7

Virus b op/on MISS WILCOX
bloem met normale kleur
(door ouderdom iets verbleekt)
*flower with normal colour
(somewhat bleached, due to age)*



8

Virus b op/on MISS WILCOX
bloem geelgestreept
flower yellow-striped



9

Virus b op/on MISS WILCOX
bloem van de gele „varieteit”
flower of the yellow „variety”



10

Virus b (soms met Cu./sometimes with Cu.)
op/on SOURCE D'OR geelgroene kringen
yellowish-green rings



11

Virus Cu. op/on RED ROLINDA
kleine gele of iets bruine vlekken
small yellow or brownish spots

Virus Cu. en b op/on ROYAL BRONZE
geelgestreepte bloem van plant met virus b, ziekgemaakt met Cu.
(bloem kleiner dan normaal) zelfde vergroting als 13
*yellow-striped flower from plant with virus b inoculated with Cu.
(flower smaller than normal) same enlargement as 13*

12



13

Virus b op/on ROYAL BRONZE
bloem normaal als van gezonde plant
flower normal as from a healthy plant

14

Virus Cu. en b op/on MAYFORD PINK
bruine kringen
brown rings





15

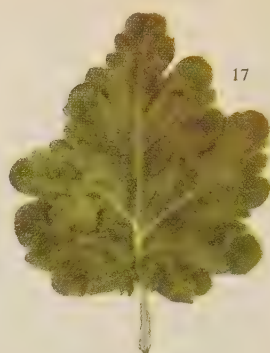
Virus Cu. op/on ROYAL BRONZE
gele verkleuring
yellow discoloration



16

Stunt virus op/on
PINK LONG ISLAND BEAUTY

vage stippen
faint dots



17

Virus b op/on PERFECTION
vage geelgroene verkleuring
faint yellowish-green
discoloration



18

Virus Cu. op/on RUBY,
bloem wit gestreept
(is normaal effen rose)
flower white-striped
(normal flower is self pink)

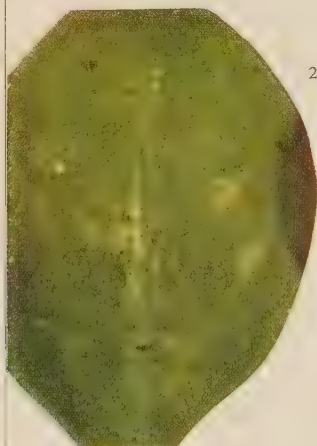


Virus Cu. op/on RUBY
bloemblaadjes wit-gestreept
petals white-striped

VIRUS Cu. EN b VAN CHRYSANT OVERGEBRACHT OP TOETSPANTEN

Virus Cu. and b from chrysanthemum inoculated on indicator plants

Virus b op/on PETUNIA HYBRIDA (geïnoculeerde bladeren) (inoculated leaves)



20

3 gele en 2 bruine vlekken
3 yellow and 2 brown spots



21

gele vlekken
yellow spots



22

Virus Cu. op/on NICOTIANA TABACUM
„White Burley” spreidsymptoom, mozaiek
systemic infection, mosaic symptoms

FIG. 23.

Chrysanthemum indicum Royal
ronze. *Links:* Uiterlijk gezonde
plant met virus b. *Midden:* Plant
met virus b, maar als stek ge-
noculeerd met *Cucumis virus* 1
st. Chr.: groeiremming, randen
van de binnenste lintbloemen
meengerold en met gele verkleu-
ing. *Rechts:* Van nature sterk
oor *Cucumis virus* 1 st. Chr.
angetaste plant: sterke groei-
remming, bloem klein en groten-
deels geel.

Chrysanthemum indicum Royal
ronze. *On the left:* Apparently
healthy plant with virus b. *In the
middle:* Plant with virus b, but
when a cutting, inoculated with
Cucumis virus 1 st. Chr.: stunting,
the margins of the inner petals
curled up and with yellow. *On the
right:* Naturally severely diseased
plant with *Cucumis virus* 1 st.
Chr.: markedly stunted, flower
small and for the greater part
yellow.



FIG. 24.

Petunia hybrida met *Cucumis virus* 1 st. Chr. Versmalling en
misvorming van niet geïnoculeerde bladeren, 5 weken na sap-
inoculatie.

Petunia hybrida with *Cucumis virus* 1 st. Chr. Narrowing and mal-
formation as systemic symptoms, 5 weeks after inoculation by sap.



FIG. 25.

Petunia hybrida met *Cucumis virus* 1 st.
Chr. De bloemkroon is gespleten in 4 delen,
3 ervan zijn omgekeerd trechtervormig
(voor de duidelijkheid is de kelk verwij-
derd).

Petunia hybrida with *Cucumis virus* 1 st.
Chr. The corolla divided in 4 parts, 3 being
inverted funnel shaped (for the sake of clear-
ness the calyx has been removed).

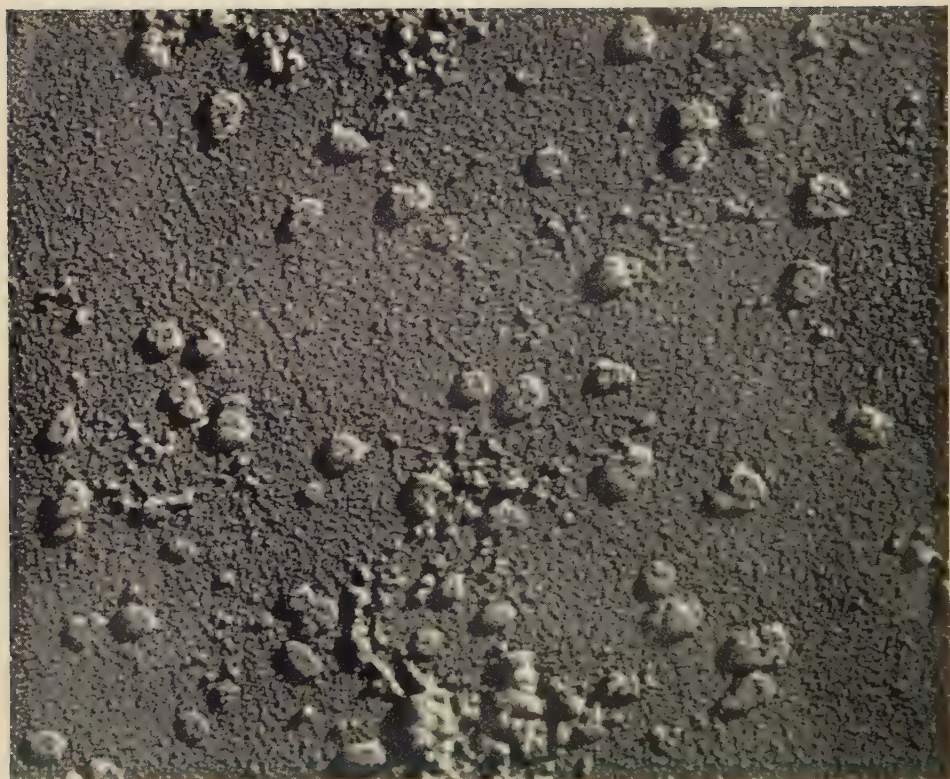


FIG. 28. De afgeplatte aggregaten van deeltjes zijn meestal 100–150 $m\mu$ in diameter. De kleinere deeltjes zijn als in fig. 27, 20–50 $m\mu$ in diameter.

The flattened aggregates of particles mostly are 100–150 $m\mu$ in diam. The smaller particles are, as in fig. 27, 20–50 $m\mu$ in diam.

BLADROLLERS IN SERINGEN ¹⁾

With a summary: Leafrollers on lilacs

DOOR

Dr Ir G. S. VAN MARLE ²⁾

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek (I.P.O.) Wageningen

Gedurende het seizoen 1950/'51 werd door de autoriteiten van de Amerikaanse plantenquarantaine aanmerking gemaakt op de aanwezigheid van bladrollerrupsen in partijen uit Aalsmeer naar New York verzonden seringén. Hoewel de export van seringén naar de V.S. momenteel nog niet groot is, betreft het hier wel een belangrijke potentiële markt, zodat een onderzoek naar deze aantasting werd ingesteld, waarbij in het bijzonder een studie werd gemaakt van bestrijdingswijzen, die de export van gegarandeerd „zuivere” seringén mogelijk zouden kunnen maken.

VOORKOMEN

Onderzoek in verschillende trekkassen, alsmede inspectie door de Heren Wit en LEEUWENBURG (controleurs der P.D.) en door personeel van de Centrale Aalsmeerse Veiling leerde dat in een vrij groot aantal kassen en ter veiling aangevoerde partijen aantasting door bladrollerrupsen kon worden geconstateerd. Deze aantasting was echter steeds van zo weinig betekenis dat, indien het hier niet ging om export naar een land, dat de eis stelt, dat elke zending absoluut vrij moet zijn van schadelijke insecten, bestrijding geen zin zou hebben. Steeds was slechts een gering percentage der koppen aangetast. De beschadiging van de aangetaste koppen was in de meeste gevallen ook niet van dien aard, dat van ernstige schade kon worden gesproken. Het feit, dat de meeste aangetaste koppen slechts door doelbewust zoeken werden gevonden, toont dit voldoende aan. Deze omstandigheid was een grote moeilijkheid voor het verkrijgen van voldoende materiaal voor bestrijdingsproeven. Ook op het veld beperkt de bladrollerschade zich in de seringén tot enkele samengesponnen blaadjes of omgekrulde bladranden.

In de nazomer werd in Aalsmeer een hevige aantasting van de ligusterhagen geconstateerd. De toppen van de nieuw ontstane scheuten van die hagen, waarop de eerste snoei tamelijk vroeg was toegepast, waren vaak samengesponnen en bleken bladrollers te bevatten. De hagen, waarop de eerste snoei laat was toegepast en die begin Augustus slechts korte nieuwe scheuten hadden, waren veel minder aangetast. In tegenstelling tot de seringén leverden de ligusterhagen overvloedig materiaal voor proeven, waarvan een dankbaar gebruik werd gemaakt.

BESCHADIGINGSBEELD

Het meest opvallend zijn de uitwerpselen der rupsen. Bij de rijpe „koppen” kan men deze op de witte seringénbloemen vrij gemakkelijk vinden. Enkele bloemtrosjes blijken dan samengesponnen en aangevreten. De aantasting wordt

¹⁾ Ontvangen voor publicatie, April 1952.

²⁾ Gedetacheerd bij het Proefstation voor de Bloemisterij te Aalsmeer. Thans werkzaam in het Rijkstuinbouwconsulentschap v. Zuid-Overijssel en Oost-Gelderland.

in de meerderheid der gevallen in de onderste helft van de bloeiwijze aange-
troffen. Zijn de bloeiwijzen nog groen of heeft men te doen met bladknoppen,
dan is de aantasting veel moeilijker te ontdekken.

BESCHADIGER

Uit materiaal verzameld op sering en in de winter, alsmede op ligusterhagen
in de zomer konden zonder moeite vlinders worden opgekweekt, die volgens
determinatie van Dr DIAKONOF van het Rijksmuseum voor Natuurlijke Historie
te Leiden in beide gevallen behoorden tot de soort *Adoxophyes orana* (HÜBN)
ook wel *Capua reticulana* genoemd, (volgens Dr DIAKONOF ten onrechte). Deze
vlinder heeft zich de laatste jaren sterk uitgebreid en in de fruitteelt grote schade
aangericht. Voor bijzonderheden over deze Tortricide wordt verwezen naar een
publicatie van DE JONG (Meded. Dir. Tuinb. 14; p. 131-150). Het feit, dat deze
zeer polyphage soort zich de laatste jaren in de fruitteelt sterk heeft uitgebreid
en thans in ligusterhagen zeer massaal wordt gevonden, doet de vraag rijzen,
of we voor de toekomst ook met een sterkere aantasting van sering rekening
zullen moeten houden.

BEGASSING MET METHYLBROMIDE

In de V.S. worden de met bladrollers besmette partijen alleen toegelaten na
begassing met methylbromide. Volgens door de Heer A. VAN ES, vertegenwoor-
diger van „Bloemex” te New York, verstrekte inlichtingen, werd de begassing
aldaar uitgevoerd met 2 lbs/1000 cu ft (= $32 \text{ g/m}^3 = 18,5 \text{ cm}^3/\text{m}^3$), terwijl de
duur der behandeling bij 70 °F. (21,1 °C) op 2 uur en bij 65 °F (18,3 °C) op
2½ uur werd gesteld. De behandeling vond bij normale druk plaats (vacuum-
begassing werd dus niet toegepast). Hoewel deze behandeling op zichzelf voor
de sering en niet schadelijk bleek, gaf de toepassing in de praktijk herhaaldelijk
aanleiding tot langdurig oponthoud, dat wel schadelijke gevolgen voor de
kwaliteit der bloemen had. Indien dezelfde behandeling vóór het verzenden der
seringen uit Nederland kon plaats vinden, zou daarentegen in verband met de
tijd, die verloopt tussen het afnemen van de sering en op de veiling en het vertrek
van het vliegtuig voor New York, de duur van het transport er niet door ver-
lengd worden. Daartoe werd nagegaan de voor het doden van de rupsen en
poppen benodigde dosis en de invloed, die deze op de sering en bloemen had. De
eerste oriënterende proeven (in de week van 23 op 29 Januari 1951) leverden wat
de doding betreft onbevredigende resultaten op, wat achteraf verklaard kon
worden uit het feit, dat de voor deze proeven gebruikte thermostaat alles-
behalve gasdicht bleek te zijn. De verdere proeven werden daarom alle ge-
nomen met een begassingsapparaat, beschikbaar gesteld door de P.D. Dit appa-
raat (Cellule de Desinsectisation et de Desinfection, geleverd door S.P.A.M.,
Procedés agricoles Modernes S.A., 43 Rue de Donai, Paris IX e) is goed ge-
sloten en is voorzien van een doseringsapparaat voor methylbromide, alsmede
van een inrichting om het gasmengsel door circulatie voldoende te mengen. Het
heeft een inhoud van $\frac{1}{4} \text{ m}^3$.

In tabel I zijn de resultaten vermeld van begassing en uitgevoerd op door
bladrollers aangetaste seringentakken.

TABEL 1

Datum	Dosis CH 3 Br. in cm ³ /m ³	Temperatuur in °C	Duur in uren	Aantal rups.	Resultaat
15-3-'51	40	20-21	2½	2	dood
9-4-'51	20	20-28	2	8	dood direct na behandeling
10-4-'51	20	15-18	2	5	dood 3 uur na behandeling
11-4-'51	10	18-24	2	2	1 dood. 1 niet teruggevonden
12-4-'51	10	19-21	2	6	5 direct dood. 1 na ½ uur

Hoewel op zichzelf zeer hoopgevend, zijn de resultaten vermeld in tabel I gebaseerd op een te gering aantal rupsen om hieraan al te veel waarde te hechten. Een gelukkige omstandigheid was echter, dat de aantasting van de ligusterhagen in de zomer zoveel materiaal opleverde, dat hiermede volkomen betrouwbare proeven mogelijk waren. De resultaten van de begassing van de rupsen zijn vermeld in tabel II.

TABEL 2

Datum	Dosis CH 3 Br. in cm ³ /m ³	Temperatuur in °C	Duur in uren	Aantal rups.	Resultaat
17-8-'51	8	27	2	100	allemaal dood na $\pm \frac{1}{2}$ dag
17-8-'51	6	25	2	100	allemaal dood na $\pm \frac{1}{2}$ dag
18-8-'51	4	22	2	100	allemaal dood na 2 dagen

Het blijkt, dat 6 cm³ methylbromide per m³ en een behandelingsduur van 2 uur bij 25 °C nog een volkomen bevredigend resultaat geven. De laagste dosis heeft nog wel een 100% doding opgeleverd, maar het afsterven duurt zo lang, dat indien deze behandeling op een exportzending zou zijn toegepast het mogelijk zou zijn geweest, dat in New York levende rupsen zouden zijn aangetroffen. Al gaan die uiteindelijk wel dood, zou dat toch minder gewenst zijn.

Al zijn in de exportzendingen tot nu toe nooit poppen aangetroffen, het feit, dat men wel volwassen rupsen vindt, maakt het gewenst hiermede rekening te houden. Van het op Ligustrum verzamelde materiaal werd een groot aantal rupsen aangehouden tot de verpopping had plaats gevonden en met de aldus verkregen poppen een aantal begassingsproeven uitgevoerd. De poppen werden na de behandeling in Petrischalen bewaard. De resultaten vermeldt tabel III.

TABEL 3

Datum	Dosis CH 3 Br. in cm ³ /m ³	Temperatuur in °C	Duur in uren	Aantal poppen	Aantal uitgekomen vlinders
20-8-'51	20	23	2	25	1 op 21-8, na $\pm \frac{1}{2}$ dag dood
21-8-'51	14	24	2	25	0
22-8-'51	10	23	2	25	0
21-8-'51	8	20	2	25	0
22-8-'51	6	21	2	25	1 op 23-8 dood gevonden
23-8-'51	4	22	2	25	0
Contrôle				25	21 op 29-8. 3 op 4-9

TABEL 4

HOUDBAARHEID

Behandelingswijze	1e soort 2 koppers datum van wegvallen				Gemidd. houdbaar aant. dagen	3e soort 2 koppers datum van wegvallen				Gemidd. houdbaar aant. dagen
	21/4	23/4	24/4	25/4		21/4	23/4	24/4	25/4	
Vers, gassen, blijvend op water	2	3			5,2	2	3			5,2
Vers, „ „ „ Chrysal		2	3		6,6		5			6,0
Vers, „ 48 u. op water, daarna Chrysal		5			6,0		5			6,0
Vers, „ 48 u. op Chrysal, daarna water		5			6,0		5			6,0
Vers, „ 48 u. droog, op water	2	3			5,2		5			6,0
Vers, „ 48 u. droog, op Chrysal		4	1		6,2		4	1		6,2
48 u. op water, gassen, op water		5			6,0	2	3			5,2
48 u. op water, gassen, op Chrysal		5			6,0		4	1		6,2
48 u. op Chrysal, gassen, op water		5			6,0		2	3		6,6
48 u. op Chrysal, gassen, op Chrysal		2	3		6,6		2		3	7,2
48 u. droog, gassen, op water	1		4		5,6		1	4		6,8
48 u. droog, gassen, op Chrysal		3	2		6,4			5		7,0
Contrôle										
48 u. op water, daarna op Chrysal		5			6,0		5			6
Contrôle										
48 u. op Chrysal, daarna op water		4	1		6,2		1	2	2	7,2
Contrôle										
48 u. droog, daarna op Chrysal			4	1	7,2			2	3	7,6
Contrôle										
48 u. droog, daarna op water	1		4		5,6	2	3			5,2
Contrôle										
Vers, blijvend op water	1	3		1	6,0	2	2	1		5,4
Contrôle										
Vers, blijvend op Chrysal		3	2		6,4		2	2	1	6,8

Het aantal in de contrôle verkregen vlinders bewijst, dat de gezondheids-toestand van de poppen en de condities waaronder deze bewaard zijn, een betrouwbare beoordeling van de begassing toelaat. Het blijkt, dat het resultaat, afgezien van een zeer kleine kans dat een niet levenskrachtige vlinder uitkomt, voorzover doses gebruikt worden, die voor de rupsen in aanmerking komen, volkomen bevredigend kan worden genoemd. Mocht in een zending een enkele maal een pop aanwezig zijn, dan behoeft dit dus geen gevaar op te leveren.

Na enkele oriënterende proeven met seringentakken werden hiermee een paar grotere opgezet. De resultaten van de laatste serie, waarbij steeds 40 cm³ CH₃ Br per m³ gedurende 2 uren gebruikt werd bij een temperatuur variërend van 17°–21 °C, zijn vermeld in tabel IV.

Hieruit blijkt dat tegen 2 uur begassen met 40 cm³/m³ bij een temperatuur van 17–21 °C uit het oogpunt van de kwaliteit en de houdbaarheid der seringten geen bezwaar bestaat.

Voert men een behandeling uit met 20 ° cm³/m³ gedurende 2 uur bij een temperatuur van 21,1 °C (70 °F) dan past men meer dan driemaal zoveel toe als nodig is om de rupsen en de poppen te doden en gebruikt de helft van een dosis die voor de seringten nog geen bezwaar oplevert. Men heeft dan aan beide zijden een ruime veiligheidsmarge. Deze dosis ligt iets boven de door de quarantaine-autoriteiten in de V.S. toegepaste.

Behalve methylbromide werden een aantal andere insecticiden beproefd. Alle behandelingen werden toegepast op afgesneden seringenvloemen en sommige ook op struiken met nog niet geheel rijpe bloemen. In enkele gevallen waren takken met rupsen beschikbaar. De behandeling vond plaats gedurende 1 uur in een kasruimte (opvothok) van 42 m³ inhoud. Gebruikt werden:

Parathion. Technisch parathion opgelost in de 10-voudige hoeveelheid aceton; verneveld met verfspuit. Hoogste dosis 16 cm³ technisch parathion/100 m³.

Dimethyl-paranitro-phenylthiofosfaat. Bladafumrookdozen (bestemd voor 100 m³ kasinhoud). Hoogste dosis 3 tabletten per 42 m³.

H.C.H. Rookpatronen I.C.I. 1 of 2 patronen per 42 m³.

D.D.T. Dedetane-pasta (50%) in 10-voudige hoeveelheid water; verneveld met verfspuit. Hoogste dosis 336 cm³ van de 10% DDT-emulsie per 42 m³.

D.D.T. Murfume D.D.T. smoke generator, Industrial and Domestic Size C. bestemd voor 60 m³. Hoogste dosis 2 patronen per 42 m³.

H.C.H. gaf enige beschadiging, bovendien namen de bloemen de typische H.C.H.-geur en werd de seringengeur hierdoor geheel overstemd. D.D.T. werd als vernevelde pasta uitstekend verdragen. Bij de hoogste gebruikte dosis verstoonden de stam en dikke takken, evenals de wanden van de kas een duidelijke witte aanslag van D.D.T. De rookpatronen gaven alleen bij het gebruik van een hoge dosis schade van betekenis. Parathion en Bladafum werd ook goed verdragen. Echter bleek zowel parathion als D.D.T. zelfs in de hoogste gebruikte dosis geen zekerheid te geven dat *alle* rupsen gedood waren. Toen bleek dat met methylbromide wel afdoende resultaten bereikt konden worden, zijn de proeven met de andere middelen gestaakt. Voor behandeling van exportzendingen in kleine, daarvoor ingerichte ruimten is het gebruik van methylbromide niet meer bezwaarlijk dan van de andere in aanmerking komende middelen en behandelingen van de seringenstruiken in kassen zou, indien nog hogere doses dan de beproefde zouden moeten worden gebruikt, zeer kostbaar worden. Bovendien zou men zonder een intensieve controle op de uitvoering hiervan, hierop ook niet kunnen vertrouwen.

SAMENVATTING

In bloeiwijzen van seringenvloemen werd de aanwezigheid van rupsen van *Adoxophyes* (Capua) *orana* HübN. geconstateerd. Deze komt voor in zo geringe aantallen, dat de directe schade door dit insect veroorzaakt verwaarloosd kan worden! Daar door de aanwezigheid van deze rupsen moeilijkheden ontstonden bij de export naar de Verenigde Staten is bestrijding gewenst. Deze kan uitgevoerd worden door de seringenvloemen vóór verzending te begassen met een dosis van 20 cm³/m³ methylbromide gedurende 2 uur bij 70° F (21,1 °C). Deze dosis is meer dan 3/4 zo groot als een dosis nodig om rupsen of poppen te doden en de helft van een dosis, die de seringenvloemen nog zonder schade voor kwaliteit of houdbaarheid verdragen.

Van andere beproefde middelen werden parathion aerosol, Bladafum rook, D.D.T. (als nevel en als rook) goed, H.C.H.-rook slecht verdragen. Zowel voor D.D.T. als parathion werd echter zelfs bij gebruik van hoge dosis geen betrouwbaar resultaat tegen de rupsen bereikt.

SUMMARY

The presence of the larvae of *Adoxophyes orana* HÜBN. in inflorescences of lilacs was stated. This insect is to be found in such a small number that the direct damage caused by it can be neglected. As, however, the presence of the larvae caused difficulties in connection with the export to the U.S.A., control is desirable. Such a control can be performed by fumigating the flowers before shipping off with 20 cm³ methylbromide per m³ during 2 hours at 70 °F. (21,1 °C). This quantity is more than 3 times as large as the quantity needed for killing the larvae or nymphs and half of the quantity, which the lilacs can still endure without damage to either quality or tenability.

Other insecticides as parathion aerosol, bladafum smoke, DDT (atomized and as a smoke) were endured well, HCH smoke caused damage. However, neither DDT nor parathion gave a reliable control of the larvae, even when large quantities were used.

BOEKBESPREKING

N. E. STEVENS & R. B. STEVENS. *Disease in Plants. An Introduction to Agricultural Phytopathology*. 219 p. met 61 fig. in de tekst. Prijs \$ 4.75 (f 21,35). Waltham Mass.: The Chronica Botanica Comp.; Groningen: N.V. Erven P. Noordhoff.

Van de vele boeken over plantenziekten, die de laatste jaren zijn verschenen, noden de meeste niet tot lezen. Zij geven een opsomming van plantenziekten en zijn bedoeld als studieboek of naslagwerk voor meer of minder vergevorderde studenten of onderzoekers op het gebied van de phytopathologie. Het boek van de beide STEVENS'EN geeft iets geheel anders. Het geeft een overzicht over de algemene principes en de problemen, die zich in de phytopathologie voordoen. Het is – zonder een boek voor de praktijk te zijn – zo op de praktijk en de praktische vraagstukken ingesteld, dat het daardoor alleen al een prettige lectuur vormt. Daarbij komt nog, dat het boeiend geschreven is in een stijl, die kort, krachtigen „to the point” is.

Het boek omvat 20 hoofdstukken, die men in drie groepen kan samenvatten. Het eerste hoofdstuk geeft een voortreffelijk inzicht in het voedselprobleem van de wereld en in de verliezen, die daarbij o.a. door plantenziekten optreden. Het grote economische belang van de bestrijding wordt daarbij duidelijk belicht en met cijfers toegelicht. Hoofdstuk 2 handelt over het effect van de ziekten op de plant, terwijl in de volgende vier de ziekteveroorzakers zeer in het kort de revue passeren.

In de tweede groep hoofdstukken worden de factoren besproken, die de ontwikkeling van ziekten beïnvloeden. Achtereenvolgens passeren de revue: de waardplant, het pathogeen, het weer en de bodem, de insecten, de variatie en physiologische specialisatie bij ziekteverwekkers, terwijl het laatste hoofdstuk van deze groep handelt over geïmporteerde waardplanten en ziekteverwekkers. In de 8 hoofdstukken van de derde en laatste groep wordt de bestrijding van plantenziekten behandeld, waarbij een hoofdstuk geheel gewijd is aan „market pathology” en het laatste aan de wijze, waarop de ziekteproblemen moeten worden aangepakt, waarbij ook de verhouding tussen landbouwer of kweker en plantendokter uitvoerig wordt besproken.

Men kan de vraag stellen voor welke lezerskring dit boek geschreven is.

M.i. is het vooral bedoeld voor de phytopathologen en voor hen, die als leraren of consulents veel met ziekten en ziektebestrijding te maken hebben. Vooral van de laatste 8 hoofdstukken kunnen zij veel nut hebben. Voor studenten, in het bijzonder voor beginnende studenten, is het minder geschikt. Ik ben het dan ook geheel oneens met de schrijvers, wanneer zij in hun inleiding zeggen: Specifically planned and prepared for students, it may prove of value to professional plant pathologists and to the general reader. Men zou deze zin m.i. beter kunnen omdraaien! Ik grond deze mening op het feit, dat men dit boek eerst goed kan lezen en begrijpen, wanneer men een aantal ziekten onder de ogen heeft gehad en bestudeerd. Wat zeggen „late blight” en *Phytophthora* (en zoveel andere namen) wanneer men niets méér van deze ziekte en deze parasiet weet?

Overigens doet dit aan de waarde van het boek, dat vooral wat de hoofdstukken 1 en 7 en volgende betreft voortreffelijk geschreven is, weinig af. Minder bevredigend zijn m.i. de hoofdstukken 2 tot en met 6. Hoofdstuk 2 wijdt zoveel aandacht aan de anatomie van de waardplant (overigens met uitstekende afbeeldingen!), dat het voor leken geschreven lijkt, anderzijds wordt, om een enkel voorbeeld te noemen, nog geen tien bladzijden verder een diagram gegeven „indicating restoration of reproductive ability in irradiated bacteriophage by genetic recombination” met een toelichting, die ver uitgaat boven de algemene lijnen van dit boek.

Behalve deze onevenwichtigheid en de al te sommaire behandeling van de ziekteoorzaken in deze hoofdstukken, geeft dit boek zoveel, dat het aan iedereen ter lezing kan worden aanbevolen. De figuren zijn over het algemeen zeer duidelijk en instructief. Jammer dat de prijs voor dit boek van ruim 200 bladzijden voor velen een belemmering zal vormen om het aan te schaffen. OORT

T. GOODEY. *Soil and Fresh water Nematodes. A monograph*
London: Methuen and Co Ltd. New York: John Wiley and Sons
Inc. 24 en 390 pg., 1951. 45 sh.

Bij het vaststellen van de soort bij aaltjes worden de grootste moeilijkheden slechts in een minderheid der gevallen veroorzaakt door de te bewerken materie. Wel wordt vaak het uiterste van het microscoop en van de microscopiseertechniek van de onderzoeker gevraagd, maar wanneer voldoende exemplaren, zo mogelijk ook levende, bekeken kunnen worden, dan kunnen ook vrijwel altijd voldoende gegevens verzameld worden om de soort te karakteriseren. De identificatie wordt echter voornamelijk belemmerd doordat de gegevens, die hiervoor nodig zijn, vaak over een groot aantal artikelen en tijdschriften verspreid zijn, waarvan een gedeelte in Nederlandse bibliotheken zelfs in het geheel niet te vinden is. Slechts een deel van deze materie is in monografieën, die op een zekere volledigheid aanspraak kunnen maken, verwerkt (o.a. THORNE: *Dorylaimoidea*). De oudere, zoals DE MAN's, voortreffelijke werk van 1884, zijn zeer onvolledig en men kan ze in de regel slechts nog gebruiken om er soortbeschrijvingen in na te slaan.

Het voortreffelijke nieuwe boek van Dr T. GOODEY, dat de gegevens over anatomie en systematiek der in grond en zoet water gevonden aaltjesgenera systematisch geordend samenvat, kan daarom niet anders dan met vreugde begroet worden. Men vindt in dit boek in de eerste plaats, kort en duidelijk geformuleerd, de kenmerken van de genera en van de systematische eenheden van hoger orde. Van elk genus is verder een representatieve soort beschreven en

afgebeeld. De overige soorten zijn genoemd met de in de literatuur voorkomende synoniemen. Hierbij was het nodig een aantal onder andere genera te brengen. Voor zover mogelijk zijn gegevens over de levenswijze van de genoemde aaltjes vermeld.

Het systematische deel wordt voorafgegaan door een korte beschouwing over de anatomie der nematoden en over de techniek van het maken van preparaten en gevolgd door een lijst van de literatuur over de opgenomen genera en een index.

Een geregeld gebruik van dit boek leerde, dat de identiteit van genera uit de meest verschillende groepen er zeer goed mee vastgesteld kon worden, mede dank zij het goede illustratiemateriaal en het opnemen van beschrijvingen van representatieve soorten. Het is daardoor niet alleen een zeer waardevolle aanwinst voor de nematoloog, maar bruikbaar voor een ieder, die zich meer incidenteel omtrent het geslacht van gevonden aaltjes wenst te oriënteren. SEINHORST

ACTUALITEITEN EN VOORLOPIGE MEDEDELINGEN

BOMEN VERGIFTIGD DOOR MIJN-GAS – TH. J. DE VIN. In de gemeenten Oss en Waalwijk stierven gedurende de laatste jaren verscheidene bomen tengevolge van een vergiftiging door lichtgas, dat uit de buizen ontsnapte.

Men neemt dit veelvuldig ontsnappen van gas in verband te kunnen brengen met de overschakeling van gemeente-gas op mijn-gas. Dit laatste is droger en lichter dan gemeente-gas. Vooral rubberpakking, die tussen twee buizen wordt aangebracht, schijnt op den duur niet voldoende bestand te zijn tegen het mijn-gas.

Tengevolge daarvan komt het voor dat tot 25% gas-verlies optreedt met noodlottige gevolgen voor de bomen.

RESISTENTE VLIEN? – Drs F. E. LOOSJES. Het is waarschijnlijk, dat ook in ons land de eerste DDT en HCH resistente vliegen in de praktijk hun intrede hebben gedaan. De Plantenziektenkundige Dienst ontving althans enige malen monsters van producten, die volgens de inzenders vroeger steeds goed zouden hebben voldaan, doch die thans geheel falen. Bij onderzoek bleken de monsters aan de vereisten te voldoen.

PAS OP MET ONKRUIDBESTRIJDINGSMIDDELEN – Drs F. E. LOOSJES. Bij het onderzoek van poedervormige insecticiden welke door de gebruikers bij de Plantenziektenkundige Dienst waren ingezonden omdat bij normale toepassing schade aan planten was veroorzaakt bleek, dat in vele gevallen verontreiniging door groeistoffen de oorzaak van de schade was. Dit werd geconstateerd door jonge Oost Indische kersplantjes met extracten te penselen, waarna de voor groeistoffen typische krommingen optraden.

Het bleek voorts dat vergissingen voor deze verontreinigingen niet altijd verantwoordelijk behoeven te zijn, doch dat indien onkruidbestrijdingsmiddelen op groeistofbasis in slecht afgesloten verpakking dicht bij eveneens onvoldoende afgesloten poeders staan, deze poeders door groeistofdampen verontreinigd kunnen worden.

Het is dus van het grootste belang onkruidbestrijdingsmiddelen op groeistofbasis in goed gesloten verpakking liefst in een afzonderlijke ruimte op te slaan.

STERKE UITBREIDING VAN DE MUSKUSRATTEN – Dr E. VAN KOERSVELD. Het aantal muskusratten, dat in ons land gevangen is, is in de loop van dit jaar zeer sterk toegenomen. Thans liggen de vangsten 33% hoger dan verleden jaar. In totaal zijn tot heden meer dan 2200 muskusratten gevangen. De toeneming is uitsluitend toe te schrijven aan een uitbreiding van het muskusrattenareaal. Terwijl in het oude muskusrattengebied (tussen Valkenswaard-Eindhoven-Wilhelminakanaal-Tilburg-Goirle en Belgische grens) de vangsten zelfs geringer zijn dan in het voorgaande jaar, zijn de vangsten buiten dit gebied 13 maal zo hoog als in 1951. Grote haarden werden bij Weert, Baarle-Nassau en Roosendaal ontdekt. Langs de gehele Nederlandse Zuidgrens van Maastricht tot Sas van Gent komen in België muskusratten voor.

Hoewel in een dichte muskusrattenbevolking de schade aan de gewassen in de nabijheid van het water zeer ernstig is, is de schade aan oevers, kaden en dijken veel aanzienlijker, hetgeen men in steeds grotere mate in België gaat bespeuren. Tot heden is de schade in ons land van dit uit Amerika geïmporteerde dier dank zij de intensieve bestrijding van zeer geringe omvang.



EXD
TIJDSCHRIFT
OVER PLANTENZIEKTEN

WESTERDIJK-NUMMER

Eu. 86



JAARGANG 58 - 1952

6e AFLEVERING

Uitgave van de
NEDERLANDSE PLANTENZIEKTENKUNDIGE
VERENIGING

Onder Redactie van

Mej. H. L. G. DE BRUYN; Dr J. A. A. M. H. GOOSSENS; Ir P. HUS;
Prof. Dr A. J. P. OORT en Dr H. J. DE FLUITER (Secretaris)

Redactie-adres: Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek,
Binnenhaven 4a, Wageningen

INHOUD

J. G. TEN HOUTEN – Ter inleiding	199
M. B. SCHOL-SCHWARZ – De persoon van Professor Dr Johanna Westerdijk	200
A. JAARSVELD – Professor Westerdijk en het Laboratorium „Willie Commelin Scholten”	202
A. L. VAN BEVERWIJK – Professor Westerdijk en haar schimmeltuín	206
A. WEBER – Phytopathologie en praktijk in Denemarken. <i>With a summary: Phytopathology and practice in Denmark</i>	209
M. P. LÖHNIS – Injury due to excess of manganese to potatoes	215
G. GASSNER – Keimungstemperatur und Flugbrandbefall	219
H. M. QUANJER – Variaties op Westerdijks rangschikking der plantenziekten	224
J. T. MIDDLETON – Generic concepts in the Pythiaceae	226
L. C. P. KERLING – Het overgaan met zaad van de Amerikaanse vaatziekte van erwten. <i>With a summary: Seed transmission of Fusarium wilt of peas</i>	236
J. W. M. ROODENBURG – The influence of day-length on the health of plants	240
H. C. BELS-KONING en K. DE JONG-OLTHOF – Bruine vlekken op champignons ten gevolge van aantasting door <i>Pseudomonas tolaasi</i> PAINE. <i>With a summary: A brown blotch disease of cultivated mushrooms caused by Pseudomonas tolaasi Paine</i>	243
A. J. P. OORT – Taksterfte bij bramen, veroorzaakt door <i>Septocytia ramealis</i> (ROB.) PET. <i>With a summary: Die-back of blackberry caused by Septocytia ramealis (Rob.) Pet.</i>	247
W. ROEPKE – <i>Pterochlorus rosae</i> CHOL., an uncommon aphid on roses	251
F. W. WENT – Distribution of plant injury due to organic air pollutants	253
T. H. THUNG – Waarnemingen omtrent de dwergziekte bij framboos en wilde braam II. <i>With a summary: Observations on the Rubus stunt disease in raspberries and wild blackberries II</i>	255
J. A. VON ARX – Studies on <i>Venturia</i> and related genera	260
D. A. A. MOSSEL – De betekenis van de zgn. bederf-associatie voor de levensmiddelen-microbiologie. <i>With a summary: The significance of the specific spoilage microflora for the food microbiology</i>	267



PROF. DR. JOHANNA WESTERDIJK

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

58e JAARGANG (1952)

6e AFLEVERING

NOV.-DEC.

TER INLEIDING

Het doet mij, als oud-leerling van Prof. Dr Joh^a Westerdijk oprecht genoeg dit ter harer ere verschijnende nummer van het Tijdschrift over Plantenziekten bij U te mogen inleiden.

Toen het Bestuur van de Nederlandse Plantenziektenkundige Vereniging en de Redactie van het Tijdschrift vernamen, dat Prof. Westerdijk dit jaar haar functie van buitengewoon hoogleraar te Amsterdam en te Utrecht zou neerleggen, werd onmiddellijk besloten tot het uitgeven van een speciaal Westerdijknummer. Hiertoe bestond dan ook alle reden. Immers Prof. Westerdijk heeft zowel voor de Vereniging als voor het Tijdschrift gedurende vele jaren zeer belangrijk werk verricht. Zij had van 1929 tot 1946 een actief aandeel in de werkzaamheden van de toen slechts uit drie personen bestaande redactie en was van 1945-1951 voorzitter van de Vereniging.

Dat de phytopathologie in Nederland tot grote bloei kwam, is mede aan haar te danken. Tientallen, voornamelijk Amsterdamse en Utrechtse biologen hebben zich, onder de indruk van haar heldere, enthousiaste colleges en goed voorbereide practica zo tot deze toegepaste tak van de biologische wetenschappen aangetrokken gevoeld, dat zij zich in deze richting zijn gaan specialiseren.

De rustige, opgewekte werksfeer in het oude herenhuis aan de Javalaan te Baarn, waarin zich het Phytopathologisch Laboratorium Willie Commelin Scholten bevindt, heeft, evenals de kritisch wetenschappelijke leiding van Prof. Westerdijk, in belangrijke mate bijgedragen tot de algemeen menselijke en wetenschappelijke vorming van haar leerlingen.

Vele onderzoekingen van haarzelf en haar leerlingen zijn in het Tijdschrift gepubliceerd en zijn van groot belang gebleken voor een beter begrip van de meest uiteenlopende ziekteverwekkers en hun bestrijding, zowel in Nederland als in Indonesië.

De inhoud van dit Westerdijknummer waaraan, gebonden door de noodzakelijkerwijze beperkte omvang, slechts een klein deel van haar leerlingen heeft kunnen meewerken, legt een duidelijk getuigenis af van de invloed, die Prof. Westerdijk op de ontwikkeling van de Nederlandse phytopathologie heeft gehad. Dat ook verschillende buitenlandse vrienden van hun belangstelling blijk gaven door het zenden van een wetenschappelijke bijdrage, is te danken aan de talloze buitenlandse contacten, die Prof. Westerdijk, vooral via het nu reeds 45 jaar door haar beheerde en tot bloei gebrachte Centraalbureau voor Schimmelcultures heeft.

Het is verheugend, dat Prof. Westerdijk, nu zij haar universitaire taak heeft beëindigd, al haar onverwoestbare energie aan haar oude liefde kan wijden. Bestuur en Redactie spreken hierbij de hoop uit, dat het haar gegeven moge zijn nog vele jaren haar werkkraft aan deze unieke, ook internationaal belangrijke schimmelcollectie te geven.

J. G. TEN HOUTEN

DE PERSOON VAN PROFESSOR DR JOHANNA WESTERDIJK

DOOR

M. B. SCHOL-SCHWARZ

Als iemand zó internationaal bekend geworden is als Professor WESTERDIJK, die, toen zij in het buitenland haar pas verloor, drie uur later een nieuwe had, ligt het voor de hand in dit tijdschrift, dat vooral haar wetenschappelijke kwaliteiten naar voren brengt, toch ook haar persoon nader te belichten.

Zij is de oudste uit een harmonieus doktersgezin, waarvan de Vader Groninger van geboorte was, terwijl de Moeder een sterke Franse inslag had.

De kleine Hans is volgens eigen verhalen, geen gemakkelijke leerlinge geweest. Van vrouwelijke handwerken moest zij niets hebben en zij wist het zóver te brengen, dat zij mocht voorlezen, terwijl de andere meisjes breiden. Met de lessen liet zij de klasse echter ver achter zich. Ze verveelde zich vaak en las dan maar onder de les. Trouwens lezen was een ware passie van haar.

Van heel jong af, heeft zij veel gereisd, in het eigen land ieder jaar naar zee – de Hollandse duinflora kent ze nog op haar duimpje – maar ook al vroeg in het buitenland, o.a. in Frankrijk naar de familie in Bordeaux, met welke nog steeds een hechte band bestaat. Op die reizen werd druk gebotaniseerd, waarbij de gedroogde bloemen tot sierlijke bouquetjes verwerkt werden. Een deel van dit materiaal is thans nog in goede staat.

De jonge Hans was een donker, knap en fier meisje, met uitgesproken aanleg voor piano. In het gastvrije doktershuis ontmoette zij vele belangrijke persoonlijkheden, ook latere musici en het was de bedoeling, dat zij in piano zou doorstuderen. Maar een zgn. piano-arm maakte dit al gauw onmogelijk en zo werd zij studente in de biologie bij Prof. HUGO DE VRIES in Amsterdam. Omdat het toegestane tempo haar ook daar te langzaam was, ontfermde haar oudere vriend, Dr C. J. J. VAN HALL, zich over haar. Hij was nl. assistent bij Prof. RITZEMA BOS, de eerste directeur van Willie Commelin Scholten (W.C.S.) in Amsterdam, en daar is toen de band gelegd tussen HANS WESTERDIJK en schimmels en plantenziekten.

Ze heeft hard gewerkt als studente, soms wel eens te hard. En toen zij voor het Middelbaar Examen in Plant- en Dierkunde geslaagd was, vroeg haar Vader, die zelf in het buitenland gestudeerd had, haar al gauw: „Ben je nog niet weg?” Dat hoefde haar geen tweemaal gezegd te worden, ze vertrok naar München, waar ze bier leerde drinken en heel veel plezier gemaakt heeft, ook vriendschappen voor het leven sloot. Tenslotte promoveerde zij in Zürich, waarna in Holland haar roemruchte tocht begon als Directrice van Willie Commelin Scholten 1906, Directrice van de Centralstelle für Pilzkulturen – het tegenwoordige Centraalbureau voor Schimmelcultures (C.B.S.) – 1907, buitengewoon hoogleraar in plantenziekten te Utrecht 1917 – de eerste vrouwelijke Professor in Nederland! – buitengewoon hoogleraar in plantenziekten te Amsterdam 1930, lid van de Koninklijke Nederlandsche Academie van Wetenschappen 1951.

In de jaren tussen 1907 en 1914 heeft zij de wereld rondgereisd, Ned. O. Indië, Japan en Amerika, waar zij veel leerde en vele internationale betrekkingen aanknoopte.

Na haar benoeming tot Professor ging zij niet meer zo lang en zo ver van

huis, maar beperkte zich tot Europa, dat zij bereisde zowel voor wetenschappelijke congressen en voor haar werk – Spanje voor het verzamelen van iepen, Portugal om er op verzoek colleges te geven – als voor de International Federation of University Women (I.F.U.W.), waarvan zij een beroemde President was.

In 1938 echter was zij enige maanden volkomen onbezorgd (immers zij had toen generlei verantwoording) mee op een excursie van biologen naar Zuid-Afrika, het land waarin zij direct aansloeg, met het volk, dat zij zo goed begrijpt, en waarmee zij veel plezier had. Wij hopen allen zeer, dat zij binnenkort er weer heen gaat, om er een poosje „een lekker lewe” te leiden na de overdrukte laatste jaren.

Geboren polyglotte, met veel oefening in vreemde talen door het vele reizen, bijzonder geïnteresseerd in volksdansen en -muziek, legde zij gemakkelijk overal banden en werd een internationaal geziene figuur. Haar bijna spreekwoordelijk geworden gastvrijheid brengt niet alleen haar eigen landgenoten, vrienden en leerlingen, maar ook vele vreemdelingen telkens weer naar de ruime kamers in het grote Baarnse huis, waar zij nu al 32 jaar de scepter heeft gezwaaid.

Voor haar studenten heeft zij altijd gevochten; zij heeft hen – vooral de meisjes, als die dreigden vast te lopen in huishoudelijke plichten van thuis – vaak opstandig gemaakt, opdat ze zich zouden vrijvechten. Zij heeft hen vooral ook bijgebracht, dat de boog niet altijd gespannen kan zijn en dat er gefeest moet worden, meestal spontaan, waarbij Tyl Uilenspiegel, schimmenspel en liedjes traditie werden. Wie heeft er ooit eerder gehoord van een gedegen Botanisch Congres waarbij de botanie in „a nutshell” op rijm en muziek werd opgedist? Wie heeft er ooit een andere vrouwelijke Professor gezien, die op promotiediners liedjes uit de Jordaan zingt, vóór een vergadering haar kudde bij elkaar jodelt en die zó dol is op dansen als onze Professor WESTERDIJK? Wie kent niet de spreuk, die er op de grote practicumzaal in Baarn gebeiteld staat: „Werken en Feesten vormt schoone Geesten”? Dat „Werken” staat voorop, want ieder, die in haar nabijheid werkt, weet, dat een bijzondere vrije dag waarbij het hele laboratorium gesloten moet worden – wat een ramp! – iedere keer opnieuw losgepingeld worden moet.

Een onbezorgd bestaan heeft JOHANNA WESTERDIJK als directrice van het W.C.S. en vooral als die van het C.B.S. niet gehad. De financiën van deze particuliere instellingen waren meestal in droeve staat en sedert veertig jaar heeft zij grotendeels door bedelen de zaak in stand gehouden en zelfs kans gezien, haar nog uit te breiden. Een belangrijke erfenis aan het C.B.S. is niet uitsluitend om het wetenschappelijk belang, maar stellig óók geschonken om de persoon van JOH.^A WESTERDIJK, die de ziel van die instelling is. Zij is nooit verwijfeld geweest door de zorgen om het dagelijks brood voor haar schimmels – of heeft het nooit laten merken – want is optimisme niet een van haar sterkste kanten?

Ik ben het eens met een oude vriend van haar, die onlangs zeide, dat het de gelukkige combinatie is van haar „muzikanten”-aard en haar wetenschappelijkheid die Professor WESTERDIJK tot de originele en inspirerende persoonlijkheid heeft gemaakt, die zij geworden is.

PROFESSOR WESTERDIJK EN HET LABORATORIUM „WILLIE COMMELIN SCHOLTEN”

DOOR

ALIDA JAARVELD

Oud-assistent; Phytopatholoog bij de Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen

Na een ruim 35-jarig hoogleraarschap in de plantenziektenkunde heeft Professor WESTERDIJK op 1 November 1952 deze functie neergelegd.

Haar officiële werkzaamheid als phytopatholoog had zij evenwel reeds vroeger aangevangen. Sinds 1 April 1906 was zij namelijk Directrice van het Phytopathologisch Laboratorium „Willie Commelin Scholten”.

Ter nagedachtenis aan de student WILLIE COMMELIN SCHOLTEN, die in 1893 op 25-jarige leeftijd overleed, werd door zijn ouders een phytopathologisch laboratorium opgericht, dat zijn naam zou dragen. Dit laboratorium werd geopend op 4 Februari 1895 en was aanvankelijk gevestigd te Amsterdam in de Roemer Visscherstraat. Directeur werd Dr J. RITZEMA BOS, die niet lang daarna tevens benoemd werd tot buitengewoon hoogleraar in de plantenziektenkunde te Amsterdam. Korte tijd na de opening werd ook de pas opgerichte Phytopathologische Dienst daar ondergebracht. Op deze wijze werd het Phytopathologisch Laboratorium „Willie Commelin Scholten” een centrum op plantenziektenkundig gebied.

Na een tiental jaren werd RITZEMA BOS benoemd tot directeur van het Rijksinstituut voor Phytopathologie. Hij trad af als directeur van het laboratorium „W.C.S.” en vertrok op 31 December 1905 naar Wageningen; de Phytopathologische Dienst ging met hem mee.

Het was moeilijk een opvolger te vinden voor de afgetreden directeur; er waren in die tijd in ons land slechts weinig phytopathologen. Op advies van Professor HUGO DE VRIES heeft het Bestuur het toen gewaagd het met een niet-phytopatholoog te proberen. Zo werd met ingang van 1 April 1906 Dr JOHANNA WESTERDIJK directrice van het laboratorium. Zij had te Amsterdam en te München gestudeerd en was te Zürich gepromoveerd op een onderzoek over mossen. Op het voor haar nieuwe terrein der plantenziekten wist zij zich echter weldra in te werken en er in den loop der tijden een vooraanstaande plaats in te nemen.

In 1907 werd de in die tijd nog kleine schimmelcollectie van het Centraalbureau voor Schimmelcultures, dat was opgericht onder auspiciën van de toenmalige Association Internationale des Botanistes, van Utrecht naar het laboratorium te Amsterdam overgebracht, waardoor dit aan betekenis won.

Er werden in het instituut verschillende onderzoeken verricht en tal van publicaties zagen het licht; in de eerste tijden waren deze uitsluitend van de hand van JOHANNA WESTERDIJK, doch later verschenen in de „Mededeelingen van het Phytopathologisch Laboratorium Willie Commelin Scholten” ook andere namen. We willen hiervan een in het bijzonder vermelden en wel die van A. VAN LUDK. Hij was de eerste assistent van het laboratorium en heeft meer dan 25 jaren zijn beste krachten daaraan gegeven; aanvankelijk samen met WESTERDIJK, later zelfstandig, heeft hij vele onderzoeken verricht en gepubliceerd.

In 1917 werden de verdiensten van WESTERDIJK op plantenziektenkundig

gebied officieel erkend door haar benoeming tot Buitengewoon hoogleraar aan de Rijksuniversiteit van Utrecht voor het geven van onderwijs in de Phytopathologie. Zij was de eerste vrouwelijke hoogleraar in ons land.

Met deze benoeming van zijn directrice tot hoogleraar kreeg het laboratorium „W.C.S.” ook een belangrijke betekenis bij de opleiding der studenten. In de eerste jaren had er al af en toe eens een Amsterdams student gewerkt. Het leek nu echter aangewezen, dat de Utrechtse studenten zich daar praktisch zouden kunnen bekwamen op het gebied der plantenziekten. Door gebrek aan ruimte was dit evenwel slechts voor enkelen mogelijk, terwijl ook het beschikbare proefterrein te wensen overliet. De tuin van het huis aan de Roemer Visscherstraat was klein en lag geheel tussen de huizen. Men had een oplossing gezocht en gevonden in een terrein aan de Amstelveenseweg, doch ideaal was deze oplossing niet; het proefveld was vrij ver van het laboratorium verwijderd en men had er geen oog op. Zo kon het gebeuren, dat de aardappels van een bestrijdingsproef tegen *Phytophthora* reeds door de bevolking gerooid bleken, toen de proefresultaten te boek gesteld zouden worden.

Al deze moeilijkheden vonden een einde door de verplaatsing van het laboratorium naar Baarn. Van de familie van wijlen AUGUST JANSSEN ontving de Utrechtse universiteit het Cantonspark te Baarn ten geschenke, ten behoeve van het onderwijs in de botanie. In deze tuin kreeg WESTERDIJK een deel ter beschikking als proeftuin. Aangezien het wel zeer bezwaarlijk was, dat nu de proeftuin zich te Baarn bevond en het laboratorium te Amsterdam, terwijl WESTERDIJK dan nog in Utrecht college moest geven, ging het Bestuur van de Stichting „W.C.S.” er toe over een villa te Baarn te kopen, de villa „Java”, welke dicht in de nabijheid van Cantonspark was gelegen en tot laboratorium werd ingericht.

Op 29 October 1920 werd het nieuwe laboratorium in gebruik genomen. Het bleek een grote verbetering te zijn. Er was nu plaats voor talrijke studenten en er kwamen er ook verscheidene. Hun aantal nam nog toe, toen WESTERDIJK in 1930 ook benoemd werd tot Buitengewoon hoogleraar aan de Gemeente-Universiteit van Amsterdam. De functie van het laboratorium „W.C.S.” voor het onderwijs was nu zeer belangrijk geworden.

Door de grote toeloop werd echter op den duur ook villa „Java” langzamerhand weer te klein. Een eerste uitbreiding kwam tot stand in 1928 door een belangrijke verbouwing, mogelijk gemaakt door een royale gift van de heer ODO VAN VLOTEN, oud-theeplanter van Java. Hierdoor kon o.a. het zich gestadig uitbreidende Centraalbureau voor Schimmelcultures veel beter gehuisvest worden, terwijl er ook overigens meer ruimte kwam.

De tweede uitbreiding vond plaats in 1930 bij de benoeming van WESTERDIJK te Amsterdam. Op het terrein van villa „Java” stond nog een bijgebouw: een koetsierswoning met stal, welk complex de naam „Madoera” had gekregen. De woning was reeds van begin af aan bewoond door een (wisselend) tweetal medewerksters van het instituut. In 1930 nu werd de stal verbouwd tot een ruime practicumzaal, met annex een kas; voortaan werden hier in de zomer de cursussen voor de studenten gegeven. Op andere tijden was deze zaal door de practische inrichting (o.a. losse tafels) gemakkelijk tot vergaderzaal (of tot feestzaal!) te transformeren. Tegelijkertijd werd ook de staf uitgebreid. Terwijl gedurende vele jaren de heer VAN LUIJK de enige assistent was voor de phytopathologie – het C.B.S. had langzamerhand zijn eigen staf gekregen – werd nu

ook vanwege de Gemeente Amsterdam een assistent aangesteld (ondergetekende had het genoeg deze functie als eerste te mogen bekleden). In de zomer werd een cursus gegeven (een aantal jaren zelfs twee), waarbij de studenten gedurende zes weken werden ingewijd in phytopathologische en mycologische methoden en waarbij ze praktische kennis opdeden van verschillende plantenziekten: hiervoor leverde vooral Cantonspark veel materiaal. Daarna bestudeerden zij in een tweede periode een speciaal probleem. Vele doctorandi bewerkten hier een onderwerp voor hun dissertatie. De tweede assistent werd nu belast met de leiding der studentenpractica, waardoor de hoofdassistent meer tijd kreeg voor hulp aan de toen zeer talrijke promovendi en voor wetenschappelijk onderzoek.

Zo bracht de band met de Universiteiten het laboratorium „W.C.S.” tot grote bloei. Het werd het centrum van de phytopathologische opleiding voor biologen in Nederland, waarvan WESTERDIJK de centrale figuur was geworden, zoals QUANJER deze was voor de phytopathologische opleiding der landbouwkundige ingenieurs. Er werkten nu studenten van alle Universiteiten, zowel van Utrecht en Amsterdam als ook van Leiden en Groningen.

Naast de werkzaamheden, verbonden met het onderwijs, werd ook ander wetenschappelijk werk verricht. Vermeld dienen te worden de onderzoekingen over de aardappelziekte, de iepenziekte, de populierenkanker, antagonisme van schimmels. VAN LUIJK, die vooral degene was, die zich met dit laatste probleem heeft beziggehouden en die ook na zijn pensionnering in December 1939 het onderzoek over antagonisme voortzette, ontving voor zijn belangrijk werk op dit gebied in 1946 het eredoctoraat van de Rijksuniversiteit van Utrecht.

Naarmate de werkzaamheden voor WESTERDIJK toenamen – zij was sinds 1930 buitengewoon hoogleraar aan twee universiteiten, directrice van het Centraalbureau voor Schimmelcultures en directrice van het laboratorium „W.C.S.”, welke beide laatste functies zeer veel van haar economisch en organisatietalent vroegen – bleef haar langzamerhand vrijwel geen tijd meer over voor eigen wetenschappelijk onderzoek. Zij trok echter talrijke leerlingen en bleef de inspirerende figuur, die hen tot onderzoeken aanzette en hun werk stimuleerde. Het aantal personen, dat bij haar gepromoveerd is, bedraagt 54, wel een ongekend groot aantal bij een buitengewoon hoogleraar. Velen van hen zijn indertijd naar Indonesië gegaan, sommigen zijn daar nog werkzaam: anderen gingen naar het buitenland, talrijken hebben hun weg in eigen land gevonden. Sommige leerlingen van WESTERDIJK vonden reeds voor hun promotie een tijdelijke aanstelling in het buitenland.

Het contact met het buitenland was trouwens steeds groot. WESTERDIJK zelf had verschillende reizen gemaakt. Vóór de eerste wereldoorlog bezocht zij Indonesië en reisde over Japan en de Verenigde Staten terug, waar zij enige maanden verbleef. In 1934 bezocht zij Portugal, waar zij met haar medewerkster Dr CHRISTINE BUISMAN een cursus gaf aan de Universiteit van Coimbra. In 1938 maakte zij tezamen met verschillende andere biologen een reis naar Zuid-Afrika. Dit was een semi-officiële reis voor het aanknopen van culturele banden met de wetenschappelijke onderzoekers in de Unie. Verder schiep en onderhield zij ook door kleinere reizen een persoonlijk contact met diverse buitenlandse instituten. Anderzijds vonden ook vele buitenlanders de weg naar Baarn, hetzij voor een kort bezoek aan het instituut, hetzij voor een langer verblijf om er de methoden te leren of een bepaald onderwerp te bestuderen. Dit veelvuldig contact met het buitenland, ook reeds in de jaren voor de oorlog, was een van

de factoren, die het werken in het Baarnse laboratorium een bredere basis gaf en het verblijf daar rijk aan afwisseling maakte. WESTERDIJK, die zelf de waarde hiervan kende, wendde steeds de volle kracht van haar persoonlijkheid aan om de soms wat verlegen studenten en jongere medewerkers (ik spreek hierbij van circa 15–20 jaar geleden), die zich bij vreemd bezoek wel eens liever op de achtergrond hielden, wat meer wereldwijs te maken en met de buitenlanders in contact te brengen. Deze „opvoeding” was een van de dingen, die men in Baarn meekreeg naast de phytopathologische vorming en waarvoor men slechts dankbaar kan zijn.

Door het Dr Christine Buismanfonds, dat in 1936 na het overlijden van Dr CHRISTINE BUISMAN – een zeer gewaardeerde medewerkster van het laboratorium „W.C.S.” – door haar ouders werd gesticht, werden verschillende jonge phytopathologen op aanwijzing van WESTERDIJK in de gelegenheid gesteld een studiereis naar het buitenland te maken. Velen hebben daarvan reeds geprofi-teerd en er soms – zoals schrijfster dezes – een zeer positieve invloed van ondervonden.

De vele contacten met het buitenland kwamen ook de bibliotheek zeer ten goede. Deze kreeg daardoor – ook nu nog steeds – separaten in groten getale van overal ter wereld toegezonden. Met deze zeer omvangrijke verzameling over-drukken, waarvan naast een alphabetisch ook een goed uitgewerkt onder-werpenregister bestaat, vormt de bibliotheek met verder de talrijke tijdschriften en handboeken een uiterst waardevol onderdeel van het laboratorium en wordt geregeld door vele phytopathologen en mycologen, ook van buiten Baarn, ge-raadpleegd.

De oorlog bracht een tijdelijke stilstand in de ontwikkeling van het labora-torium. Het gebouw leed evenwel geen schade; de werkzaamheden konden met uitzondering van de Meidagen in 1940, toen de gebouwen verlaten moesten worden, steeds worden voortgezet, zij het op het eind ook uiterst moeizaam; men slaagde er zelfs in met allerlei hulpmiddelen, met medewerking ook van enige welwillende buitenstaanders, en vooral dank zij de vooruitziende blik van WESTERDIJK, de schimmelcollectie door de moeilijke periode heen te loodsen.

In de eerste jaren na de oorlog werd het wetenschappelijk onderzoek in sterke mate bemoeilijkt door gebrek aan wetenschappelijke hulp. Sinds 1949 kwam hierin echter weer verbetering, zodat er nu weer behoorlijk onderzoek kon plaatsvinden.

Door een ernstige ziekte was WESTERDIJK in 1950 gedurende enige tijd ver-hinderd haar werkzaamheden te verrichten. Gelukkig mocht zij weer geheel herstellen en kon zij na haar herstel haar omvangrijke taak weer opvatten.

Nu heeft zij echter gemeend, dat de tijd is gekomen om het merendeel harer functies neer te leggen; slechts het directoraat van het C.B.S. blijft zij nog vervullen.

Het zal vreemd zijn, Professor WESTERDIJK niet meer aan het hoofd van het Baarnse lab te vinden, waar zij zolang haar plaats had te midden van haar staf en haar studenten. Doch al zullen haar functies in andere handen zijn overgegaan, zijzelf met haar bijzondere en veelzijdige persoonlijkheid zal onvervangbaar en onvergetelijk blijven. Het laboratorium „Willie Commelin Scholten”, dat zij in haar ruim 46-jarig directoraat tot grote ontwikkeling heeft gebracht, waar zij voor de phytopathologie grote belangstelling wist te kweken en deze weten-schap tot grote hoogte wist op te voeren, moge als een monument zijn, dat nog

lang zal spreken van haar uitnemende qualiteiten als wetenschappelijk onderzoeker en docente en van haar grote energie en doorzettingsvermogen.

Moge het zich ook verder in opgaande lijn blijven ontwikkelen in het belang van de phytopathologie en WESTERDIJK ter ere, die in de phytopathologie haar levenstaak vond. Moge het ook WESTERDIJK gegeven zijn nog lang de verdere ontwikkeling van het laboratorium en de lotgevallen der door haar opgeleide phytopathologen te kunnen gadeslaan. Nog vele jaren, Professor!

PROFESSOR WESTERDIJK EN HAAR SCHIMMELTUIN

DOOR

A. L. VAN BEVERWIJK

Hoewel Professor WESTERDIJK haar functie als directrice van het Centraal Bureau voor Schimmelcultures, naar wij hopen, nog lang zal blijven vervullen, mag in dit feestnummer een artikel over dit belangrijke deel van haar werk zeker niet ontbreken. Hoe nauw zijn de plantenziektenkundige afdeling en het Centraal Bureau niet met elkaar verbonden, voor buitenstaanders is het zelfs moeilijk de grenzen te weten tussen het „W.C.S.” en het „C.B.S.”.

Zoals alle levende wezens was het C.B.S. bij zijn geboorte klein. In 1903 werd tijdens een vergadering van de Association Internationale des botanistes te Leiden besloten, dat het gewenst was een verzameling levende schimmels te onderhouden, met de bedoeling dat deze schimmels ter beschikking zouden staan voor wetenschappelijk onderzoek. Deze Centralstelle für Pilzkulturen zoals het aanvankelijk betiteld werd, was gehuisvest in het botanisch laboratorium te Utrecht onder de hoede van Professor Dr F. A. F. C. WENT. In 1907 werd de zorg voor deze collectie opgedragen aan Dr JOHANNA WESTERDIJK, toen reeds directrice van de stichting Willie Commelin Scholten, gevestigd in de Roemer Visscherstraat te Amsterdam. De eerste schimmelcatalogus in dat jaar uitgegeven, beslaat één pagina met ongeveer 80 namen. In 1911 is deze reeds uitgegroeid tot een lijst van zes bladzijden, bijna 400 schimmelsoorten vermeldend. Door ruil en aanvraag van nieuwe soorten neemt het aantal schimmels der collectie gestadig toe – vóór alles is het streven de verzameling zo rijk mogelijk aan soorten te maken.

Dan komt de eerste wereldoorlog met al zijn beperkingen op internationaal gebied en het C.B.S. maakt een moeilijke tijd door, die nog ernstiger wordt, wanneer na afloop van de oorlog blijkt, dat de Association Internationale des botanistes opgehouden heeft te bestaan en de gelden ervan onnaspeurlijk zijn. Door toedoen van de Natuurkundige afdeling van de Koninklijke Academie van Wetenschappen te Amsterdam, ontvangt het C.B.S. dan een subsidie die het op het juiste moment voor ondergang behoedt. Een commissie van toezicht wordt gevormd, bestaande uit een lid van de Koninklijke Academie, een lid aan te wijzen door de stichting Willie Commelin Scholten, die het C.B.S. huisvesting biedt, en een lid van de Union Internationale des Sciences Biologiques, die ook financieel steunt. Nadat JOHANNA WESTERDIJK in 1917 hoogleraar is geworden te Utrecht, wordt ook voor studenten de collectie van belang. In 1928 zijn reeds dertien leerlingen gepromoveerd en zeven dissertaties op

phytopathologisch gebied in bewerking, waarbij dankbaar gebruik gemaakt is van de zo nabije schimmelcollectie.

Inmiddels is in 1920 de stichting Willie Commelin Scholten en daarmee ook het Centraal Bureau voor Schimmelcultures van Amsterdam verhuisd naar de villa Java in Baarn. De collectie is intussen uitgegroeid tot ruim 1000 soorten. Buitenlanders beginnen ook de waarde van deze schimmelcollectie te kennen. In 1921 werd het C.B.S. bezocht door 25 vreemdelingen uit 9 verschillende landen. Nieuwe soorten worden aangevraagd uit alle delen der wereld, 360 schimmelcultures werden dat jaar verzonden, maar veelal naar landen met een gedeprecieerde valuta, zodat het met de financiën niet zo rooskleurig is. „Met een minimum geld moet een maximum werk verricht worden” schrijft Professor WESTERDIJK in een verslag over een dezer jaren aan de Koninklijke Academie van Wetenschappen. En zo is het thans nog! Financiële zorgen zijn de lastige doorns aan deze zo rijk bloeiende rozenstruik. Maar door de gehele geschiedenis van het C.B.S. heen, zien wij steeds weer hoe Professor WESTERDIJK door haar overtuiging van het grote nut van deze verzameling voor wetenschap en industrie de juiste personen of instellingen weet te vinden en enthousiast te maken voor haar doel. En zo wordt telkens weer hulp gevonden die de juist zo hoog nodige aanschaf van materiaal of uitbreiding van onderzoek mogelijk maakt. Door een subsidie van de Rockefeller-stichting kunnen instrumenten aangeschaft worden, een jaarlijkse bijdrage uit Indië maakt de aanstelling van nog een assistent mogelijk, die aanvankelijk speciaal tot taak krijgt de uit de tropen afkomstige schimmels te bewerken. Hoe groot het belang van deze schimmelcollectie is voor het onderzoek van ziekten der tropische gewassen, wordt vooral ook gewaardeerd door de oud-theeplanter, de heer O. VAN VLOTEN. Hem danken wij, met nog verdere financiële steun, de vleugel waarin thans het C.B.S. is ondergebracht. 19 October 1928 wordt deze uitbouw feestelijk geopend. Schimmels en assistenten krijgen de ruimte!

Het C.B.S. heeft inmiddels drie assistenten die voor het instandhouden van de collectie, voor het verzenden der aangevraagde soorten, voor determinaties en voor onderzoek voor industrieën zorg dragen. De gisten zijn thans ondergebracht in het laboratorium voor microbiologie te Delft onder de supervisie van Professor Dr A. J. KLUYVER. Steeds meer breidt de collectie zich uit, steeds meer gaan mycologen en phytopathologen de waarde ervan inzien, dat hun schimmels hier in leven gehouden kunnen worden, als zijzelf door andere werkzaamheden ze niet meer verder kunnen kweken.

In 1933 telt de collectie totaal 4608 soorten en stammen, waaronder 760 gisten. Ook de aanvraag van schimmels neemt toe, ruim 1700 cultures werden in 1932 verzonden. Een andere belangrijke tak van onderzoek begint zich steeds meer te ontwikkelen: industrieën vragen om advies wanneer hun producten zoals textiel, papier, koek, limonade of zelfs lippenstift en tandpasta door schimmels aangetast worden. Daarnaast worden steeds meer onbekende schimmels ter determinatie ingezonden, zowel door medische, veterinaire, phytopathologische als wetenschappelijke instituten en industrieën in binnen- en buitenland. Er bestaat geen ander mycologisch instituut, dat de taak op zich neemt om schimmels, afkomstig uit alle delen der wereld en van praktisch alle schimmelmelgroepen, te determineren. De in de laatste jaren steeds toenemende belangstelling in de physiologische eigenschappen der schimmels maakt een solide basis voor het bestuderen en vastleggen van hun morfologie meer dan ooit

noodzakelijk. Immers, een microbiologisch onderzoek verricht met een *Penicillium* „species” is van geringe waarde, omdat het organisme niet nauwkeurig bepaald is en het onderzoek dus nooit nagedaan kan worden. Voor het bewerken der determinaties is het vergelijk-materiaal uit de collectie een grote hulp en anderzijds blijken dikwijls schimmels, die ter determinatie werden ingezonden, een belangrijke aanwinst voor de verzameling.

Naast al dit lopende werk wordt ook nog tijd gevonden voor wetenschappelijke bijdragen, zoals het beschrijven van nieuwe soorten en het bewerken van een monografie over gisten.

In tijden van geldnood of gebrek aan ruimte hebben medewerkers zich wel eens afgevraagd: moeten we steeds doorgaan met de uitbreiding van het aantal soorten, er zijn massa's soorten die zelden of nooit aangevraagd worden. Maar dergelijke remmende suggesties werden steeds krachtig opzij geworpen, en terecht! Want wie had b.v. in 1920 kunnen voorzien dat de schimmel *Penicillium notatum* eens wereldberoemd zou worden en daarmee ook een hausse veroorzaken in het onderzoek naar antibiotica in alle mogelijke groepen van schimmels, paddenstoelen en Actinomyceten. Meer dan ooit bleek toen de waarde van deze zo uitgebreide verzameling. En dan, de schimmel *Eremothecium ashbyii*, een parasiet van de vruchtbollen van de katoenplant, die jarenlang bij ons „sluimerde”, maar ineens na de tweede wereldoorlog een tijdlang bijna wekelijks besteld werd. Het bleek, dat het C.B.S. de enige plaats in de wereld was, waar deze belangrijke producent van riboflavine bewaard was gebleven. En hoe dankbaar waren de industrieën dat we hun deze soort nog konden leveren.

Toen Professor WESTERDIJK de schimmels te verzorgen kreeg, waren er 80 soorten, thans zijn het er 8000! Zonder dat ooit geld uitgegeven werd voor reclame, is het C.B.S. in nog geen vijftig jaar over de gehele wereld bekend geworden. Wanneer wij, medewerkers, in verwante instituten in het buitenland komen, gaan de deuren voor ons open, niet alleen van de laboratoria, maar ook van de woningen, want wie heeft Professor WESTERDIJK niet eens ergens een lied horen zingen, of een sigaar zien roken, ook al was dat alleen maar van horen zeggen! Toen eens een bezoeker in Baarn de weg vroeg naar het C.B.S. was hij heel verbaasd, dat men daar in Portugal wel van gehoord had, maar hier aan het station blijkbaar niet; gelukkig kwam hij op het idee om naar Professor WESTERDIJK te vragen!

Moge een enkel citaat uit een brief die wij na de oorlog ontvingen, nog eens onderstrepen hoezeer ook in het buitenland dit werk van Professor WESTERDIJK gewaardeerd wordt:

„It really made me happy to learn from your letter that you, your institute and the culture collection are safe and you are continuing with full strength and spirit that pioneer work, which made both science and industry to be safeguarded in the field of mycology.”

PHYTOPATHOLOGIE EN PRAKTIJK IN DENEMARKEN

With a summary: Phytopathology and practice in Denmark

DOOR

ANNA WEBER

Statens plantepatologiske Forsøg, Lyngby, Denemarken

Phytopathologie heeft twee grote taken: onderzoek en voorlichting. Iedere taak stelt zijn eigen eisen; ze zijn nauw verbonden en toch gescheiden. De een kan de ander niet ontberen. Het onderzoek kan van zuiver wetenschappelijke aard zijn, maar krijgt vroeg of laat zijn betekenis voor de praktijk of helpt zichzelf vooruit. Hier schuilen echter waarden, die moeilijk te meten zijn, zodat elk goed wetenschappelijk werk tenslotte van betekenis voor de praktijk wordt. Nog duidelijker is het, dat phytopathologische voorlichting niet mogelijk is als hieraan geen wetenschappelijk werk ten grondslag ligt.

Denemarken is een betrekkelijk klein land, maar land- en tuinbouw spelen er naar verhouding een grote rol. Omdat ons land zo klein is, heeft het wetenschappelijk werk geen goede mogelijkheden gehad, maar grote belangstelling van de zijde van land- en tuinbouw eiste voorlichting; deze moesten wij voor een groot deel op buitenlandse resultaten baseren, en juist op dit gebied heeft Holland veel voor ons betekend. Hoe vaak ben ik niet naar de lange reeks dissertaties toegegaan, die ik uit Baarn heb, omdat ik wist, dat daarin iets stond over het onderwerp, waarover ik inlichtingen moest geven; dan gingen mijn gedachten tegelijkertijd met dankbaarheid naar Baarn en vooral naar Professor JOHA. WESTERDIJK, bij wie ik in 1923 drie leerrijke en onvergetelijke maanden heb doorgebracht. Ik ben erg blij, dat ik nog steeds in contact met haar ben, niet alleen als vakgenote, maar ook daarbuiten.

Hoewel het wetenschappelijke onderzoekingswerk in Denemarken geen goede mogelijkheden heeft, is hier toch reeds op een vroeg tijdstip veel werk gedaan, dat ook buiten de grenzen van Denemarken van betekenis is.

In de eerste plaats moet genoemd worden: J. C. FABRICIUS: „Forsøg til en afhandling om planternes sygdomme”, vermeld in „Det kongelige norske Videnskabernes Selskabs skrifter 5: 431–492–1774. Dit werk is als het eerste in de series: *Phytopathological Classics* van de American Phytopathological Society gedrukt: „Attempt at a dissertation on the diseases of plants”. FABRICIUS beschouwt reeds op dit vroege tijdstip in de phytopathologische wetenschap de plantenziekten als organismen (iets organisch).

Een Deens onderwijzer op een dorpsschool, N. P. SCHÖLER, heeft in 1816 enige *Berberis vulgaris* in een veld met rogge geplant, omdat hij een vermoeden had, dat *Berberis* het graan besmette, zodat dit roest kreeg. Het gelukte hem inderdaad dit vermoeden te bevestigen, de rogge werd besmet. Toch werd niet algemeen aangenomen, dat *Berberis* de oorzaak van zwartroest was. Velen geloofden er echter aan en hebben hun *Berberis* uitgeroeid. In die tijd waren er in Denemarken op vele plaatsen *Berberis* geplant, omdat deze een bijzonder goede haag vormden. Eerst in 1903 werd *Berberis* in Denemarken verboden en dit veroorzaakte een duidelijke vermindering van de zwartroest op graan. Helaas is dit uitroeien niet totaal geweest en in 1951 toen de besmettingsomstandigheden bijzonder gunstig waren, zijn in verscheidene delen van het

land ernstige gevallen van zwartroest ontstaan. Toen is er een jacht op *Berberis vulgaris* gemaakt en zijn er heel veel gevonden, zowel in het wild als geplant. Nu tracht men deze plant geheel uit te roeien.

Oorspronkelijk was A. S. ØRSTED een tegenstander van de gedachte, dat er een verband tussen roest (aecidium) op *Berberis* en zwart-roest op graan zou zijn, maar hij deed van 1862–1865 onderzoekingen over wisseling van waardplant tussen roestschimmels, en schreef 4 publicaties er over b.v. over wisseling van roest op peer en *Juniperus sabina*.

Hoewel de grote phytopathologie, die E. ROSTRUP in 1902 uitgegeven heeft (640 blz.), slechts in het Deens gedrukt is, is dit boek toch bij velen buiten Denemarken bekend. ROSTRUP heeft in dit boek de plantenziekten in bos-, land- en tuinbouw beschreven, en men staat verbaasd over ROSTRUPS grote kennis op het gebied van plantenziekten in een tijd, waarin hij geen mogelijkheid had hierover veel buitenlandse literatuur te lezen. Een heel groot deel weet hij alleen door zijn eigen studies. In zijn herbarium zijn meer dan 30.000 exemplaren en ze zijn bijna alle door hem of door zijn leerlingen verzameld. Dat hij een groot verzamelaar van schimmels was, is ook bekend door de lijst van de schimmels in zijn herbarium, die J. LIND in 1913 (648 blz.) in het Engels „Danish Fungi” uitgegeven heeft, dit boek omvat 3324 herbariumnummers.

ROSTRUP probeerde altijd in hoge mate zo te werken, dat zijn ervaringen van nut konden zijn voor de praktijk, hij heeft veel gepubliceerd. In „Danish Fungi” is een lijst van 412 publicaties, die hij geschreven heeft. Van 1883 tot zijn dood in 1907 onderwees hij Phytopathologie op de landbouwhogeschool en van 1884 was hij consulent in de Phytopathologie.

In 1885 schreef ROSTRUP: „Oversigt over de i 1884 indlobne Forespørgsler angaaende Sygdomme hos Kulturplanter” (Overzicht over de in 1884 ingezonden vragen over plantenziekten). Deze jaarberichten zijn zonder onderbreking uitgegeven met verschillende schrijvers en de schadelijke dieren werden al kort daarna mee opgenomen. Nu komen ze uit als: „Plantesygdomme i Danmark, Aarsoversigt, samlet ved Statens plantepatologiske Forsøg. (Plantenziekten in Denemarken, jaarbericht van Statens plantepatologiske Forsøg); dat van 1951 wordt nr 68.

In 1906 is F. KÖLPIN RAVN begonnen met het uitgeven van: „Maanedlige Oversigter over Sygdomme hos Landbrugets Kulturplanter (Maandbericht over plantenziekten in de landbouw) en dit omvat ook de schadelijke dieren. In 1916 is ook met de uitgave van een maandbericht over ziekten in de tuinbouw begonnen, later zijn deze twee berichten samen uitgegeven. Met verschillende schrijvers zijn ze zonder onderbreking in de maanden April-October uitgegeven, zodat nr 315 in October 1951 uitgegeven werd door Statens plantepatologiske Forsøg. Het nauwe contact dat in Denemarken bestaat tussen de phytopathologen en de praktijk, komt tot uitdrukking door het grote aantal phytopathologische boeken, dat uitgegeven is. Deze werden niet alleen door phytopathologen en consulenten gebruikt, maar ook in hoge mate door de man in de praktijk. Vele van deze boeken zijn door één schrijver begonnen en later vaak in uitgebreidere vorm door anderen voortgezet. Verscheidene van deze boeken zijn in andere talen vertaald. F. KÖLPIN RAVN heeft in 1914 het boek: „Smitsomme Sygdomme hos Landbrugsplanterne” (Besmettelijke ziekten van landbouwplanten) uitgegeven, dit was een vervolg op een klein boekje, dat E. ROSTRUP in 1871 en 1903 geschreven heeft en na de dood van F. KÖLPIN

RAVN in 1920 heeft C. FERDINANDSEN in 1922 een nieuwe uitgave geschreven, gedeeltelijk volgens notities van F. KÖLPIN RAVN.

De schoondochter van ROSTRUP, de zoöloge SOFIE ROSTRUP, schreef: „Landbrugets Skadedyr” (Schadelijke dieren in de landbouw), de eerste uitgave kwam in 1900 en in 1928 heeft zij samen met M. THOMSEN de vierde uitgave geschreven en deze is in het Duits vertaald en in 1940 hebben M. THOMSEN en P. BOVIEN de vijfde uitgave geschreven (400 blz.). P. BOVIEN en M. THOMSEN hebben in 1933 de eerste uitgave van „Haveplanternes Sygdomme” (Schadelijke dieren op de tuinbouwplanten) uitgegeven en in 1950 de derde uitgave (343 blz.) met 8 gekleurde illustraties.

Een kleiner boek: „Haveplanternes Sygdomme” (De ziekten van de tuinbouwplanten) is in nog grotere mate steeds opnieuw uitgegeven, echter met verschillende schrijvers. In 1910 is de eerste uitgave door J. LIND geschreven, in 1948 kwam de dertiende uitgave met ANNA WEBER en Christian STAPEL als schrijvers. De vijfde tot negende uitgave zijn verzorgd door ERNST GRAM hetzij met J. LIND of met ANNA WEBER. Dit boek heeft nu 202 bladzijden, in het begin waren er slechts 66 bladzijden en is nu in 93.000 exemplaren gedrukt, een uitgave is in het Fins vertaald.

De volgende boeken dienen eveneens te worden genoemd:

C. FERDINANDSEN en N. FABRITIUS BUCHWALD: „Fysiogene sygdomme” (Fysiogene ziekten) 214 blz., 1936.

C. FERDINANDSEN en C. A. JØRGENSEN: „Skovtræernes Sygdomme” (Ziekten van de bomen in het bos), 570 blz. en met 2 gekleurde platen, 1938-'39.

ERNST GRAM: „Kartoffels sygdomme” (Aardappelziekten) 1940, 108. blz, 24 gekleurde illustraties. In het Zweeds en Noors vertaald.

ERNST GRAM en ANNA WEBER: „Plantesygdomme” (Plantenziekten) 1940 en 1944, 558 blz. en 10 gekleurde illustraties. Dit boek is in het Zweeds en in het Engels vertaald.

E. GRAM en P. BOVIEN: „Rodfrugternes Sygdomme og Skadedyr” (ziekten en schadelijke dieren op wortelgewassen) 1942, 125 blz., 48 gekleurde illustraties.

CHR. STAPEL en P. BOVIEN: „Markfrøafgrøderne Sygdomme og Skadedyr” (Ziekten en Schadelijke Dieren in de landbouw-zaadteelt) 252 blz., 48 gekleurde illustraties.

Verder zijn door bovengenoemde schrijver en door HANS R. HANSEN, PAUL NEERGAARD en H. RÖNDE KRISTENSEN nog een aantal kleinere boeken over plantenziekten geschreven en al deze schrijvers en vele anderen hebben een groot aantal artikelen, resultaten van proeven enz. in verschillende vaktijdschriften gepubliceerd. Dus heeft de man in de praktijk vele mogelijkheden om kennis te nemen van phytopathologische onderwerpen en wij, die lang in het werk zijn, merken ook een groot verschil op vergeleken bij vroeger in de ontwikkeling op dit gebied, als wij in de praktijk komen.

Het phytopathologische werk wordt in Denemarken volgens verschillende methodes en op verschillende plaatsen gedaan, maar berust in hoofdzaak bij de Landbouwhogeschool en bij Statens plantepatologiske Forsøg, vooral bij de laatste instelling.

Na 1883, in welk jaar E. ROSTRUP leraar op de landbouwhogeschool werd, hebben de studenten onderwijs in plantenziekten gekregen en later ook over schadelijke dieren.

Op de landbouwhogeschool is niet veel tijd geweest voor wetenschappelijk onderzoek, omdat het onderwijs zo veel tijd in beslag genomen heeft en de leraren hebben slechts heel weinig hulp van assistenten gehad. Toch hebben ook de 3 opvolgers van E. ROSTRUP, F. KÖLPIN RAVN, C. FERDINANDSEN en N. FABRITIUS BUCHWALD wetenschappelijk werk gedaan en dit gepubliceerd. Nu zijn de mogelijkheden voor wetenschappelijk onderzoek iets beter, de tegenwoordige assistent op de phytopathologische afdeling ERNST HELLMERS werkt met verschillende bacteriologische vraagstukken en heeft b.v. zijn onderzoekingen over *Pseudomonas lacrymans* gepubliceerd.

Enige studenten hebben ook phytopathologisch werk gedaan, als ze op een 2-3-jarige vervolgcursus waren.

Hun publicaties daarover zijn bijna even groot als een Hollandse dissertatie over plantenziekten.

In 1906 zijn de Deense landbouwverenigingen met een proefbedrijf voor plantenziekten begonnen, dit is in 1913 door de Deense staat overgenomen als Statens plantepatologische Forsög. Tegenwoordig is hier een botanische en een zoölogische afdeling, een afdeling voor onderzoek van bestrijdingsmiddelen en een afdeling voor voorlichting, deze laatste afdeling is in tweeën gesplitst, één afdeling voor tuinbouw en één voor landbouw, terwijl de bosbouw op de landbouwhogeschool thuishoort.

De verschillende afdelingen van Statens plantepatologische Forsög zijn alle in Lyngby, 12 km van Kopenhagen. Daar bevinden zich laboratorien, een klein proefveld en twee broeikassen.

De botanische en de zoölogische afdeling verrichten wetenschappelijk onderzoek, doch in nauw contact met de praktijk, de proeven worden vaak gedaan in de land- of tuinbouwpraktijk, waar de ziekten voorkomen, b.v. zijn er heel veel proeven op verschillende plaatsen met sporelementen als Mn, Cu etc. gedaan.

De resultaten van de onderzoekingen worden in „Tidsskrift for Planteavl” gepubliceerd en als schrijvers vindt men de meeste van bovengenoemde namen en enige andere b.v. GUDRUN JOHANSEN, die met mycologische onderzoekingen op vlas en andere planten gewerkt heeft. Vele vlugschriften worden ook uitgegeven.

De bovengenoemde maand- en jaarberichten worden door verschillende leden van de staf geschreven; zij zijn gebaseerd op antwoorden op rondvraagformulieren, die in de maanden April-October aan de consultants en andere geïnteresseerden gestuurd worden. Vaak hebben meer dan 100 personen in de zomermaanden deze formulieren beantwoord. Natuurlijk worden in deze maandberichten de vele vragen, die aan het instituut gestuurd worden en de ervaringen, die het personeel zelf doet, verwerkt. Op deze wijze zijn de maandberichten in nauw contact met de praktijk.

Ieder jaar worden op het instituut 5000-6000 vragen beantwoord, deze zijn ingestuurd door land- en tuinbouwconsulenten, maar ook door vele andere mensen uit het gehele land, omdat iedereen vragen kan, hetzij hij een groot bedrijf met planten heeft, of alleen een plant in zijn kamer. Alle vragen worden kosteloos beantwoord. In bijzonder gecompliceerde gevallen en bij nieuwe gevallen wordt, als het mogelijk is, een bezoek afgelegd op de plaats, waar de planten zijn. Helaas is dit niet altijd mogelijk, omdat er niet genoeg personeel en genoeg geld voor veel reizen ter beschikking staat.

De afdeling voor bestrijdingsmiddelen werkt ook in nauw contact met de

praktijk, omdat het instituut alléén een klein proefveld heeft, moeten de afdelingen een groot deel van hun proeven in boomgaarden, op velden met landbouwgewassen, enz. doen. Natuurlijk zijn de namen van de verschillende bestrijdingsmiddelen geheim, maar het verschil kan de eigenaar van de planten en zijn personeel zien en ze komen op deze wijze ook in contact met de phytopathologen, die het werk doen.

Verder is de voorlichtingsafdeling verplicht de praktijk te helpen en dit wordt in de eerste plaats gedaan door de consulenten. Deze zijn in Denemarken niet door de staat aangesteld, maar door de verschillende verenigingen. De voorlichtingsafdeling stelt gratis veel platen, kleurenfoto's enz. voor tentoonstellingen, lezingen, cursussen e.d. ter beschikking van de consulenten. Het personeel van het instituut houdt zelf ongeveer 100 lezingen per jaar op verschillende plaatsen in het land, op cursussen, vergaderingen enz.

Bovendien zijn er consulentenexcursies, deze excursies zijn zo geregeld, dat enige consulenten, zelden meer dan 10, uitgenodigd worden om samen met één of meer van het personeel van de voorlichtingsdienst een excursie te maken en plantenziekten, dieren enz. te bekijken. De excursie wordt met behulp van de lokale consulenten in de zomer in verschillende delen van het land georganiseerd. Deze excursies, waar allen met hun vragen en ervaringen voor de dag kunnen komen, zowel van wetenschappelijke als van praktische zijde, zijn even leerrijk voor de consulenten als voor de phytopathologen.

De consulenten doen ook heel veel proeven met bespuitingen, ontsmetting, enz. in hun eigen district; ook worden deze proefnemingen vaak in samenwerking met de phytopathologen gedaan. Deze kleine proeven zijn in de eerste plaats van betekenis voor degene bij wien de proef gedaan wordt, maar kunnen ook van meer algemene betekenis zijn.

In de laatste jaren is er een nieuwe factor bijgekomen, verscheidene firma's, die de bestrijdingsmiddelen verkopen, hebben land- of tuinbouwingenieurs aangesteld en deze komen op bezoek en geven praktische raad. Natuurlijk is zo'n raad erg doordrongen van het feit dat ze voor hun eigen middelen opkomen, maar de man in de praktijk leert toch vaak heel wat, omdat de firmaconsulenten goede kennis van plantenziekten hebben en als ze samen in de boomgaard of in het veld enz. gaan, kan hij veel vertellen en laten zien, evenals een gewone consulent.

In de tijd dat P. NEERGAARD bij een grote Deense zaadmaatschappij was aangesteld, heeft hij veel met schimmels op zaad gewerkt en zijn dissertatie: „Danish Species of *Alternaria* and *Stemphylium*”, 500 bladzijden, 1945, is van grote betekenis voor de kennis van deze schimmels geweest.

Soms hebben verschillende organisaties enz. geld gegeven voor phytopathologisch werk, door dergelijke middelen heeft b.v. HENNING P. HANSEN veel met virusziekten gewerkt en zijn dissertatie is ook over virusziekten.

In de laatste jaren is door samenwerking tussen phytopathologen en praktijk een keuringsdienst begonnen voor verschillende planten b.v. framboos, zwarte bes en aardbei; reeds lange tijd is er een keuringsdienst voor aardappelen geweest.

Ik heb over phytopathologie en praktijk geschreven, omdat ik weet dat prof. WESTERDIJK veel belangstelling voor deze kwestie heeft en omdat ik voel dat het contact tussen wetenschap en praktijk in Denemarken goed is.

Wat er in Denemarken gedaan is op het gebied van phytopathologisch onderzoek is meer te danken aan de grote interesse van de enkele phytopatho-

loog dan aan de staat, de staatsinstellingen zijn in de eerste plaats in beslag genomen door het dagelijks werk. Wij hopen dat de staatsinstellingen in de toekomst meer tijd aan zuiver wetenschappelijk werk zullen kunnen besteden.

SUMMARY

Denmark is only a small country, but agriculture and horticulture are of great importance. The phytopathological work that has so far been done has had to be very practical in character and there has not been much time left for research; nevertheless, several Danish phytopathologists have done good work, which is well known abroad.

In 1774 J. C. FABRITIUS wrote a very interesting little book, which was translated into English and published in 1926 by The American Phytopathological Society as *Phytopathological Classics* number 1: „Attempt at a dissertation on the diseases of plants.” It made an essential contribution to the early development of Phytopathology.

In the writing of books, Danish phytopathologists have been rather diligent. Several books on phytopathological subjects are mentioned in the article, and some of them have been translated into other languages: Norwegian, Swedish, Finnish, German and English. The book by J. LIND on „Danish Fungi”, which gives a list over 3324 numbers from the herbarium of E. ROSTRUP was written in English only, not in Danish. ERNST GRAM and ANNA WEBER's „Plant Diseases” has been translated into English 1952.

From 1885 onwards an annual report on the occurrence of plant diseases in Denmark has been published and from 1916 onwards monthly reports have appeared from April to October each year. Most of the phytopathological work for agriculture and horticulture is done at Lyngby near Copenhagen at „The Danish State Experimental and Research Station for Plant Diseases and Pests”. The work for forestry and all teaching takes place at „The Royal Agricultural College in Copenhagen”. ROSTRUP began teaching there in 1883; he and his successors found time also for some research work, but not as much as they would have wished.

Danish phytopathologists maintain very close contact with practice. The institute at Lyngby offers a free advisory service to all who have diseased plants and good connections are maintained with the agricultural and horticultural advisers. During the summer months the latter send in reports on the occurrence of diseases and pests in the field and these are worked up in the monthly reports. The advisers are supplied with pictures, leaflets, colourphotographs, etc. for exhibitions and lectures.

Excursions to different parts of the country with phytopathologists from the staff at Lyngby are arranged with groups of advisers, usually not more than 10 at a time. The advisers themselves arrange the excursions, so that they may visit localities where there are problems of interest to discuss; very often the owner of the plants is also present, so that he can give details of their cultivation. These excursions, which provide an opportunity for considering both the practical and scientific aspects of the occurrence of pests and diseases, are appreciated by all, and not least by the phytopathologists.



Statens plantepatologiske Forsøg, Lyngby, Denemarken

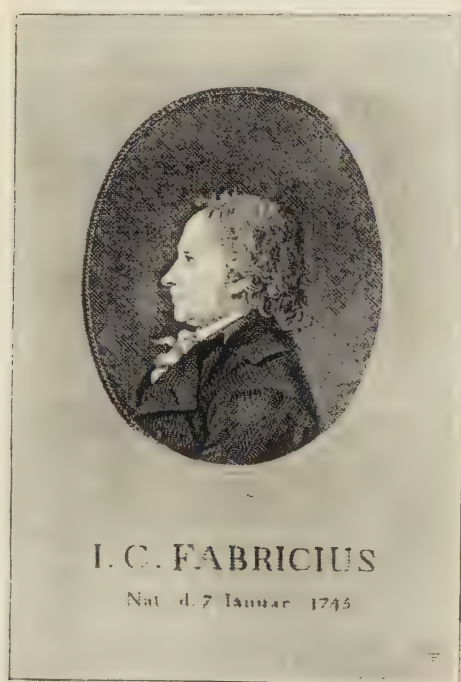




Fig. 1

Photo K. Knoop



Fig. 2

Photo K. Knoop



Fig. 3

Fig. 1. Noordeling from AS plot I without $MgSO_4$, July 3rd, 1950

Fig. 2. Noordeling from solution culture with 50mg Mn L

Fig. 3. Noordeling from AS plot I, right with and left without $MgSO_4$, July 6th, 1951

Fig. 4. Eigenheimer from AS plot I, right with and left without $MgSO_4$, July 6th, 1951



Fig. 4

INJURY DUE TO EXCESS OF MANGANESE TO POTATOES¹⁾

BY

MARIE P. LÖHNIS

(Laboratorium voor Microbiologie, Wageningen)

For a number of years studies of manganese toxicity have been made in the experimental garden of the Laboratory for Microbiology at Wageningen (Löhnis 1946, 1950, 1951). Among plots (each 42 m²) laid out in 1922 a triplicate series (termed in the following as I, II and III) of 6 plots each have been supplied with different amounts of ground limestone (60-30-15-10-5-0 kg). Two further plots in duplicate (termed as I and II) have either received ammonium sulphate or chilean nitrate as nitrogen fertilizer. Except for nitrogen all plots have received a similar manurial treatment each year and have been planted with the same crops, these, however, varying yearly.

From 1940 until 1948 half of each plot was planted with potatoes, but since 1949, the proportion has been $\frac{1}{3}$ of each plot only. On the remaining portion of each plot various crops have been tested for sensitivity to excess of manganese, each year brown and snapbeans (Bruine en Dubbele prinsessebonen) being included.

In order to test whether magnesium deficiency played any part in the injury observed in acid plots, oats were grown in 1944 on the unlimed and ammonium sulphate plots. No signs of Mg deficiency were observed.

Since 1948 the potato varieties grown have been Eigenheimer and Noordeling. The latter is very prone to an injury, known among agriculturists as the „Noordeling phenomenon“. While the plants are still in full growth the margins of the older leaves turn yellow and dark spots appear in the intervenal areas. These leaves are shed prematurely and while the upper part of the plant is still developing healthy leaves, the lower part may be defoliated. The eventual size of the plants is hardly or not at all affected. Field experiments have pointed to magnesium deficiency as the cause of this disorder. HEWITT (1944) induced similar symptoms in potatoes grown in sand culture lacking Mg. In solution cultures run by the writer (unpublished) Noordeling has shown these signs of Mg deficiency much earlier than Eigenheimer, thus proving its greater sensitivity.

On 10 June 1949 signs of Mg deficiency were recorded in Noordeling, most strongly in the ammonium sulphate plots, but markedly also in the unlimed ones. As time went on the symptoms were noted in all the plots. In 1950 and 1951 Mg deficiency in Noordeling occurred in increasing measure in all plots; Eigenheimer also showed the same symptoms, though in a lesser degree. It appeared that in course of time the Mg content of all the plots was decreasing, probably as a result of potassium magnesium sulphate, formerly used as potassium fertilizer, being out of the market. In 1949, as soon as the deficiency had appeared, on half the unlimed and ammonium sulphate plots planted with potatoes and beans, a top dressing with MgSO₄ was applied. For the potatoes the dressing proved too low to show any effect. On beans, however, the supply of MgSO₄ had a very curious effect. At the time of dressing the bean plants had shown very severe

¹⁾ Since 1948 this investigation has been carried out under the National Council for Agricultural Research, T.N.O. (Applied Scientific Research).

symptoms of Mn toxicity. In the halves of the plots treated with MgSO_4 plant development proceeded and signs of Mn excess could be noticed only on the older leaves. This is the usual course of events when the excess is slight. (Löhnis 1950, 1951). Where no MgSO_4 had been applied, the plants remained stunted, with severe symptoms of Mn excess all over the foliage. When the Mn content of the foliage was estimated in stored samples, it was found to be markedly lower in the better developed MgSO_4 -treated plants than in the others. These experiments with beans will be described in further detail at a later date.

These observations on beans drew attention to a possible interrelationship between uptake of Mg and Mn by the plant. To arrive at a clearer understanding, in 1950 half of each unlimed and ammonium sulphate plot was supplied with MgSO_4 (at the rate of 170 kg/ha) at the time of seeding. The Mg deficiency symptoms had increased in all the plots, when compared with former years. In the unlimed and ammonium sulphate plots, however, the development of Noordeling was much better in the plot halves treated with MgSO_4 ; the same was true for Eigenheimer for unlimed plot I and both ammonium sulphate plots.

In the absence of MgSO_4 , the plants not only remained markedly smaller, but some of them showed a very characteristic injury. Elongated, sunken, dark brown streaks appeared at the bases of the stems and later similar streaks appeared higher up the stems and at the insertions of the petioles. In the leaves minute dark spots appeared, which later coalesced, leading to collapse of the leaf tissue. The petioles showing dark streaks were very brittle and the leaves would drop at the slightest touch. The injury resembled a virus streak or a bacterial disease (Fig. 1). The same disorder has been noted in an unlimed field near Wageningen.

A description of a disorder with the above symptoms is to be found in a paper by BERGER and GERLOFF (1947). These authors studied a „stem streak necrosis“ of potatoes occurring in acid fields in North Wisconsin. They ascertained that excess of Mn was the cause of the trouble and were able to reproduce the symptoms by growing potatoes in solution cultures supplied by 100 and 200 mg L MnCl_2 .

Van SCHREVEN (1939) induced symptoms of excess of Mn in potatoes by culturing them in nutrient solutions containing 400 mg L and upwards of $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

HEWITT (1947, 1948) induced the same disorder in sand cultures supplied with a nutrient solution containing 660 mg/L Mn.

Both these cases of experimentally induced symptoms of Mn toxicity agree closely with those occurring in the field in Wisconsin and at Wageningen.

For proving that excess of Mn was the real cause of the symptoms corroboration by means of solution cultures was needed. When a complete nutrient solution had 50 or 100 mg/L Mn as $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ added to it, the characteristic lesions of the stems, nodes and petioles appeared and the foliage showed the dark spots, final disintegration and early shedding (Fig. 2).

Samples of the diseased plants from the Mg plot halves and of healthy plants from the corresponding + Mg ones were gathered on 30 June and stored for estimation of the Mn content. As it was already known that old leaves would contain more Mn than the top leaves, young and old leaves and the stems were gathered separately. In Table I the results of the chemical estimations are presented.

TABLE 1. 1950. Manganese ppm dry weight.

Plot	Ammonium Sulphate I and II		Unlimed I	
	-	+	-	+
MgSO ₄	-	+	-	+
Samples of:	<i>Noordeling</i>			
Stems	2849	1424	1795	1104
Young leaves	1786	1496	1296	1054
Old leaves	3419	2692	-	-
Samples of:	<i>Eigenheimer</i>			
Stems	4273	2251	2991	-
Young leaves	3846	1303	1097	1057
Old leaves	5014	3419	1650	1382

Figures in - MgSO₄ series exceeding the values in + MgSO₄ are given in bold-type.

All the plant parts from the - Mg plot halves had a higher content of Mn than corresponding parts from the + Mg plot halves. The difference was most marked in the parts most seriously injured.

In 1951, halves of all the experimental plots were supplied with MgSO₄ (170 kg/ha). The Mg deficiency was very conspicuous in Noordeling as well as in Eigenheimer and eventually in all plots; even in the halves which had been supplied with MgSO₄, severe Mg deficiency occurred. In the latter halves, even in the most acid ones, the development in height, however, remained unimpaired and only an early shedding of the leaves due to Mg deficiency prevailed. In both ammonium sulphate plots, the plants in the -Mg halves, Eigenheimer as well as Noordeling, remained much smaller from the start (4 June). At a later date in many of these small plants the characteristic lesions in stems and leaves were observed. In the unlimed plots a smaller difference in development was recorded on 20 June and only in the -Mg half of plot III were slight symptoms of Mn injury noted on 7 July. At that date most plants of the -Mg half of the ammonium sulphate plot I were very seriously injured. In the ammonium sulphate plot II, somewhat shaded by neighbouring trees, plants lagged in development and stem lesions appeared somewhat later.

Samples were gathered in corresponding +Mg and -Mg plots and the results of chemical estimations are presented in Table II.

Table II. 1951. Manganese ppm dry weight

Plot	Ammium sulphate						Unlimed											
	I						II			I		II		III				
	6/6		29/6 ¹⁾		6/7 ²⁾		6/6		29/6 ³⁾		28/7 ⁴⁾		6/6		6/6		6/6	
Sampling date	6/6		29/6 ¹⁾		6/7 ²⁾		6/6		29/6 ³⁾		28/7 ⁴⁾		6/6		6/6		6/6	
MgSO ₄ . . .	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
<i>Eigenheimer</i>																		
Samples of:																		
Stems	-	-	2778	1923	2564	1701	-	-	1328	937	2528	1674	-	-	-	-	-	-
Young leaves	1417	1118	3575	2058	2243	2566	1122	1168	1922	1709	1503	1745	543	505	448	559	801	532
Old leaves	-	-	2749	1887	-	-	-	-	1424	2137	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Noordeling</i>																		
Samples of:																		
Stems	-	-	-	-	4548	2172	-	-	-	-	3418	2386	-	-	-	-	-	-
Young leaves	1119	838	-	-	-	2706	3045	-	-	-	2268	1460	-	-	-	-	-	-

¹⁾ Stem lesions

²⁾ No stem lesions

³⁾ Photo's 3 and 4

⁴⁾ Stem lesions

Figures in -MgSO₄ series exceeding the values in + MgSO₄ are given in bold-type.

Here again the Mn content in stems from the -Mg plot halves was found to be much higher than in the healthy plants from the +Mg halves. For the leaves this was not always the case, but in plants such as those in Figs. 3 and 4, where there was serious injury at the bases of the stems any abundant transport of Mn to the leaves is hardly to be expected.

DISCUSSION

Until 1950 potatoes had shown no visible injury in plots where more sensitive crops such as beans and lucerne had suffered seriously from excess of manganese, although the Mn content of the potato foliage had often surpassed the level dangerous for other crops (Löhnis, 1950, 1951). In the last two years conditions allowed the onset of toxicity symptoms, and this was found to be due to a much higher uptake of Mn, coupled with decreasing availability of magnesium.

The rise of the Mn level in the plants on Mg-deficient soil might be due to various causes. The Mg might affect the quantity of available Mn in the soil. In 1950 some data were collected on the amount of exchangeable Mn in corresponding half-plots, but it was not possible to detect any tendency for exchangeable Mn to exceed that in the +Mg ones. It is intended, however, to collect further data.

An influence of Mg on the uptake of Mn by the plants seems more probable. Antagonistic action of heavy metals, more especially of iron, to Mn has often been ascertained experimentally. As in the usual type of soils the solubility of both Mn and iron will increase under acid conditions, an increase in the uptake of Mn due to a low supply of iron is hardly to be expected under agricultural conditions.

HEWITT (1946, 1947) in sand cultures found that there was a reduction in the uptake of Mn in the presence of soluble Ca. Both factors, low Ca and high Mn, might easily occur side by side in acid soils, the latter inducing a higher content of Mn in the crop.

SCHMEHL, PEECH and BRADFIELD (1950) were able to corroborate this in some measure by experiments in soil.

In the same way, in acid soils the Mg may be expected to be low with a high level of available Mn.

The only case that has come to my notice of an effect of Mg on the uptake of Mn being reported is one by PARBERRY (1943), who investigated a „scald” on beans on certain soils in New South Wales. The affected plants had a higher content of Mn, more especially those which were deficient in Mg.

The beneficial effect of fertilizing potatoes in acid soils with Mg salts may be due to correction of Mg deficiency, but it may also be due to reduction of injury due to excess of Mn.

SUMMARY

Potatoes grown in acid soils suffered injury due to excess of manganese.

The uptake of manganese by the plants was influenced by the amount of available magnesium present.

LITERATURE

- BERGER, K. G. and GERLOFF, G. G. 1947. Stem streak necrosis of potatoes in relation to soil acidity, *Americ. Potato J.* 24 (5): 156-162.

- HEWITT, E. J. – 1944. Visual symptoms of mineral deficiencies in vegetables and cereals grown in sand cultures. Progr. Rep. 1. Ann. Rep. Long Ashton Res. Sta. 1943 : 33–47.
- HEWITT, E. J. – 1945. The resolution of the factors in soil acidity. Progr. Rep. I. Ann. Rep. Long Ashton Res. Sta. 1945: 51–60.
- HEWITT, E. J. – 1946. The resolution of the factors in soil acidity. Some effects of manganese toxicity. Ann. Rep. Long Ashton Res. Sta. 1946: 50–61.
- HEWITT, E. J. – 1947. The resolution of the factors in soil acidity. The relative effects of aluminum and manganese toxicities on farm and market garden crops. Ann. Rep. Long Ashton Res. Sta 1947: 82–97.
- LÖHNIS, M. P. – 1946. Een voedingsziekte in bonen (Phaseolus) (Summ. A nutritional disease in beans. Preliminary Rep.) T. Pl. ziekten 52 (6): 157–160.
- LÖHNIS, M. P. – 1950. Injury through excess of manganese. Trace elements in Plant physiology. Lhotsya 3: 63–76.
- LÖHNIS, M. P. – 1951. Manganese toxicity in field and market garden crops. Plant and Soil 3 (3): 193–222.
- PARBERRY, H. N. – 1943. The excessive uptake of manganese by beans showing scald and magnesium deficiency. Its regulation by liming. Agr. Gaz. N.S. Wales 54: 14.
- VAN SCHREVEN, D. R. – 1939. De gezondheidstoestand van de aardappelplant onder de invloed van twaalf elementen. Meded. Landbouwhogeschool 43: 1–166.
- SCHMEHL, W. R., PEECH, M. and BRADFIELD, R. – 1950. Causes of poor growth of plants in acid soils and beneficial effects of liming: 1. Evaluation of factors responsible for acid-soil injury. Soil Science 70 (5): 393–410.

KEIMUNGSTEMPERATUR UND FLUGBRANDBEFALL

VON

GUSTAV GASSNER

Botanisches Institut der Technischen Hochschule Braunschweig

Nach OORT (Tijdschrift over Plantenziekten 50, 73–106, 1944) ist das Zustandekommen der Flugbrandinfektion, insbesondere das Vordringen des Brandpilzes in den Keimling der heranwachsenden Samenlage, an genügend hohe Temperaturen während der Entwicklung und der Reifevorgänge des Kornes gebunden; denn durch niedrigere Temperaturen wird der Infektionserfolg nachweislich herabgesetzt. Andererseits ließen weitere Versuche des gleichen Autors insoweit keinen Einfluß der Temperatur auf den Flugbrandbefall erkennen, als die Temperatur während der Keimung und auch die späteren Temperaturverhältnisse die Höhe des Brandbefalls nicht zu beeinflussen vermochten.

Die folgenden Versuche befassen sich mit dem Einfluß der *Keimungstemperatur* auf den Flugbrandbefall. Die an heranwachsenden Getreidekörnern gemachten Feststellungen von OORT lassen sich dahin deuten, daß die Entwicklungs- und Wachstumsbedingungen von Brandpilz und Wirtspflanze an verschiedene Kardinalpunkte der Temperatur gebunden sind. Wenn dies richtig ist, muß trotz der entgegengesetzten Feststellungen von OORT mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß auch bei der Keimung ähnliche Beziehungen zwischen Keimungstemperatur und Brandbefall vorliegen wie sie OORT für das Infektionsverhalten der Brandpilze in den sich entwickelnden Samenanlagen feststellen konnte. Von diesem Gesichtspunkt ausgehend, ist im folgenden die Frage geprüft, ob und inwieweit tiefe Temperaturen während des ersten Keimungsablaufs der Getreidekörner den Flugbrand zu beeinflussen vermögen.

Die *Versuchsanstellung* in den 3 im folgenden mitgeteilten Hauptversuchsreihen (Tab. 1–3) sowie in 2 weiteren, hier nicht wiedergegebenen, aber zu

grundsätzlich gleichen Feststellungen führenden Versuchen stimmt darin überein, daß flugbrandhaltiges Saatgut von Sommerweizen und Wintergerste entweder ohne oder meist nach kurzer Vorquellung längere Zeit bei tiefen Temperaturen gehalten und hier zur ersten Entwicklung gebracht wurde. Parallel dazu verliefen Kontrollversuche mit Temperaturen von 20° sowie auch solche ohne jede Vorbehandlung des Saatgutes. Der Aufbau der Versuche erfolgte unter Berücksichtigung der bei den verschiedenen Temperaturverhältnissen ungleichen Entwicklungsgeschwindigkeit, sodaß die Keimpflanzen aller zusammenhängenden und in Vergleich gesetzten Versuchsreihen am gleichen Tage ins Freiland kamen. Die Unterschiede im Flugbrandbefall dürfen und müssen somit eindeutig auf die während der ersten Keimungsvorgänge vorliegenden Temperaturunterschiede zurückgeführt werden.

TABELLE 1. Einfluss einer 4-wöchigen Kältevorbehandlung bzw. „Kältekeimung“ gequollener Weizenkörner auf den Flugbrandbefall.
Versuchsbeginn: 18. April 1951.

Nr	Weizensorte	Vorquellung bei 20°	Kältebehandlung ¹⁾	Ins Freie gepflzt.	Gesunde Ähren	Flugbrand		Relative Flugbrandwerte
						Ähren	%	
1	Santa Fé	24 Std. (18/19. April) ²⁾	4 Wochen bei 0 bis -2°	17. Mai	1165	23	1,94	38
2	Santa Fé	24 Std. (18/19. April) ²⁾	4 Wochen bei +1°	17. Mai	1048	15	1,41	28
3	Santa Fé	48 Std. (15-17. Mai) ³⁾	—	17. Mai	1258	67	5,06	100
4	Peragis	24 Std. (18/19. April) ²⁾	4 Wochen bei 0 bis -2°	17. Mai	1313	8	0,61	19
5	Peragis	24 Std. (18/19. April) ²⁾	4 Wochen bei +1°	17. Mai	1274	6	0,47	15
6	Peragis	48 Std. (15-17. Mai) ³⁾	—	17. Mai	1117	37	0,21	100

¹⁾ In Petrischalen auf feuchtem Filtrierpapier.

²⁾ 1 2 Std. in Wasser getaucht, anschliessend 23½ Std. in Petrischalen auf feuchtem Filtrierpapier.

³⁾ Wie ²⁾ aber 47½ Std. in Petrischalen auf feuchtem Filtrierpapier.

In dem vorstehenden Versuch sind 24 Stunden angequollene Weizenkörner 4 Wochen bei Temperaturen von 0 bis -2° C bzw. bei +1° C gehalten, wo sie sich langsam entwickelten. Die Körner der Serien 0 bis -2 hatten am Schluß der Kältebehandlung eine Keimblattlänge von 2-3 und eine Wurzellänge bis zu 12 mm, die am gleichen Tage ins Freiland pikierten Körner der Serie 1 etwas mehr als 10 bzw. etwa 30 mm, die entsprechend später angesetzt und am gleichen Tage wie die Kälteversuche ins Freiland gepflanzten Kontrollversuche bei 20° eine Keimblattlänge von 1-2 und eine Wurzellänge von 7-10 mm.

Die Versuche erbrachten bei beiden zu den Versuchen verwendeten Weizensorten eine *starke Herabsetzung des Flugbrandbefalls* in den Versuchsreihen mit *tiefen* Temperaturen. Wenn wir den Brandbefall nach Keimung bei 20° gleich 100 setzen, haben wir bei Santa Fé-Weizen ein Absinken der Brandwerte (rechte Reihe von Tabelle 1) auf 38 bzw. 28, bei Peragis-Weizen sogar auf 19 bzw. 15, also außerhalb aller Fehlergrenzen liegende Werte.

Der Versuch wurde mit gewissen Abänderungen im Frühjahr dieses Jahres wiederholt. Zur Anwendung kamen Temperaturen von -1 und -5°, die

bezüglich ihrer Wirkung mit Versuchen bei $+20^{\circ}$ sowie mit überhaupt nicht vorgekeimten Körnern in Vergleich gesetzt wurden. Der Kühlschrank $+1^{\circ}$ zeigte während der Versuchsdauer durch Störung des Temperaturreglers vorübergehend ein Absinken auf Temperaturen von etwa -2 bis -3° , worauf die in den herabgesetzten Pflanzenzahlen zum Ausdruck kommenden Schädigungen zurückzuführen sind. Da die gewählten Zeiten von 61 Tagen bei $+1^{\circ}$, von 36 Tagen bei $+5^{\circ}$ und von 6 Tagen bei 20° länger waren als in dem in Tab. 1 wiedergegebenen Versuch, war auch die Entwicklung der Pflanzen etwas weiter fortgeschritten als in dem vorjährigen Versuch. Keimlings- und Wurzellänge betrugen bei $+1^{\circ}$ 4–8 bzw. bis zu 20 mm, bei $+5^{\circ}$ 35–40 bzw. etwa 70 mm, bei $+20^{\circ}$ fast 50 bzw. 80 mm. Diese Werte gelten für den Tag der Umpflanzung ins Freie, die für alle Versuche, einschl. der überhaupt nicht behandelten Kontrollen, am gleichen Tage (8. April 52) erfolgte.

TABELLE 2. Einfluss einer längeren Vorkeimung bei tiefen Temperaturen ($+1^{\circ}$ und $+5^{\circ}$) auf den Flugbrandbefall von 2 Sommerweizen.

Versuchsbeginn: 7. Februar 1952

Versuchsdurchführung: nach 2-stündiger Vorquellung in Wasser von 20° Ankeimung in Sand bei Temperaturen von $+1^{\circ}$, $+5^{\circ}$, $+20^{\circ}$. Anschliessend die Keimlingspflanzen ins Freiland pikiert. Kontrollen unbehandelt.

Nr	Weizensorte	Vorgequollen u. in Sand ausgelegt	Vorkeimtemperatur und Dauer	Ins Freiland gepflanzt	Gesunde Ähren	Flugbrand-ähren	Flugbrand-%	Relative Flugbrandwerte
1	Santa Fé	7. Febr.	$+1^{\circ}$, 7. Febr.–8. April	8. April	481 ¹⁾	0	0	0
2	Santa Fé	3. März	$+5^{\circ}$, 3. März–8. April	8. April	3346	27	0,8	23
3	Santa Fé	2. April	$+20^{\circ}$, 2. April–8. April	8. April	2804	94	3,25	92
4	Santa Fé	Kontrolle	—	8. April	2765	101	3,54	100
5	Peragis	7. Febr.	$+1^{\circ}$, 7. Febr.–8. April	8. April	1551 ²⁾	3	0,19	5
6	Peragis	3. März	$+5^{\circ}$, 3. März–8. April	8. April	2913	71	2,38	61
7	Peragis	2. April	$+20^{\circ}$, 2. April–8. April	8. April	3005	113	4,07	104
8	Peragis	Kontrolle	—	8. April	2869	117	3,92	100

¹⁾ Starke Schädigungen während des Aufenthaltes bei tiefer Temperatur.

²⁾ Deutliche Schäden während des Aufenthaltes bei tiefer Temperatur.

Auch in dem vorstehend dargelegten Versuch von Tab. 2 bedeutet die Vorkeimung bei tiefen Temperaturen eine zum Teil höchst auffällige Herabsetzung des Flugbrandbefalls. Wenn wir wieder die Flugbrandwerte der Kontrolle gleich 100 setzen, haben wir bei Santa Fé-Weizen Werte von 0 und 12, bei Peragis solche von 5 und 61 bei Keimtemperaturen von $+1$ bzw. $+5^{\circ}$. Die Flugbrandwerte der Keimung bei 20° entsprechen mit 92 und 104 durchaus den Werten der unbehandelten Kontrollen.

Die folgende Tabelle 3 enthält einen entsprechenden Versuch mit *Wintergerste* der im Herbst 1951 zur Durchführung gelangte (Flugbrandablesungen im Mai 1952). Gewählt wurde eine 21–23tägige Kältebehandlung bzw. Kältekeimung bei Temperaturen von $+3$ bis $+4^{\circ}$. Die in feuchtem Sand liegenden Gerstenkörner waren am 20. September, dem Tage der Umpflanzung ins Freie, deutlich angekeimt und in ihrer Entwicklung etwa ebenso weit wie die 2 Tage bei 20° in feuchtem Sand gehaltenen. Der Brandbefall ist auch in den Gerstenversuchen bei hoher Temperatur (20°) deutlich höher als bei tiefen ($+3^{\circ}$ bis $+4^{\circ}$), wenn auch die Unterschiede mit 75 bzw. 82 und 71 bzw. 53 gegenüber 100 bei 20°

weniger groß sind als bei den Versuchen mit Weizen. Da in dem Versuch von Tab. 3 jedoch andere Temperaturen und vor allem kürzere Einwirkungsauern zur Anwendung gekommen sind, ist ein unmittelbarer Vergleich nicht recht möglich.

TABELLE 3. Einfluss einer 3-wöchigen Kältekeimung (+3 bis +4°) von Gerstenkörnern auf den Flugbrandbefall
Versuchsbeginn: 28. August 1951.
Auslegen der Körner gleichmässig in feuchten Sand.

Nr	Gerstensorte	Vorbehandlung bei 20°	Kältebehandlung bei +3 bis +4°	Ins Freie gepflanzt	Gesunde Ähren	Flugbrand-ähren	Flugbrand %	Relative Flugbrand-werte
1	Friedrichswerther Berg-Wintergerste	2Tg. (28–30. Aug.)	21Tg. (30. Aug. bis 20. Sept.)	20. Sept.	2696	102	3,79	75
2	Friedrichswerther Berg-Wintergerste	—	23Tg. (28. Aug. bis 20. Sept.)	„	2323	101	4,17	82
3	Friedrichswerther Berg-Wintergerste	2Tg. (18–20. Sept.)	—	„	2428	123	5,06	100
4	Carstens 2zeilige Wintergerste	2Tg. (28–30. Aug.)	21Tg. (30. Aug. bis 20. Sept.)	20. Sept.	4956	92	1,83	71
5	Carstens 2zeilige Wintergerste	—	23Tg. (28. Aug. bis 20. Sept.)	„	4618	64	1,37	53
6	Carstens 2zeilige Wintergerste	2Tg. (18–20. Sept.)	—	„	4859	128	2,57	100

Alle vorstehenden Versuche stimmen darin überein, daß die *niedere Temperatur* in den *ersten Stadien* des Keimungsprozesses zur Anwendung gekommen ist; sie stimmen weiter darin überein, daß diese niederen Keimtemperaturen ein deutliches, oft sogar ein sehr starkes Absinken des Flugbrandbefalls zur Folge haben. Diese Feststellung läßt sich ohne weiteres den von OORT an sich entwickelnden und reifenden Samen bzw. Samenlagern gemachten entsprechenden Feststellungen an die Seite stellen. Wenn wir für diese im obigen mit der Möglichkeit eines ungleichen Temperaturverhaltens von Nährpflanze und Pilz gerechnet haben, muß es naheliegen, auch für die gleichsinnigen Beziehungen zwischen Keimungstemperatur und Flugbrandbefall ähnliche Gründe anzunehmen. In den unlängst im hiesigen Institut durchgeführten Untersuchungen von AMOS (Inaug. Dissertation Braunschweig 1952) gehört zur erfolgreichen Infektion der Ähren ein rechtzeitiges Vordringen des Brandmyzels in die Nähe des Vegetationskegels; insbesondere müssen die Knotenstellen rechtzeitig vom Pilz durchdrungen werden, da diese sehr bald verhärten und dann für den Pilz unpassierbar werden. Jede relative Verzögerung des Pilzwachstums bedeutet also für den Pilz die Gefahr, daß er die Nähe des Vegetationskegels nicht mehr erreicht, d.h. also, daß die Bildung von Brandähren nicht mehr erfolgen kann, und der Brandbefall abnimmt. Es ist bekannt, daß Getreidekörner auch bei sehr tiefen Temperaturen — Weizenkörner schon auf schmelzendem Eis — keimen können. Wenn das Myzel des Brandpilzes ein höheres Wachstumsminium besitzt als die Nährpflanze, bedeutet also Keimung der an sich infizierten Körner bei tiefen Temperaturen eine Abnahme des Brandbefalls, wie es nach den vorstehenden Versuchsergebnissen tatsächlich der Fall ist.

Ist der Brandpilz einmal in den Vegetationskegel vorgedrungen und fallen damit die eben erwähnten Gründe der Temperaturwirkung fort, so ist mit

einem weiteren Einfluß tiefer Temperatur auf den Brandbefall kaum zu rechnen. Unsere eigenen Erfahrungen stimmen also mit der von OORT angegebenen Bedeutungslosigkeit tiefer Temperaturen insoweit überein, als *spätere* Entwicklungsstadien der Getreidepflanzen durch tiefe Temperaturen nicht beeinflusst werden. In Zusammenhang hiermit sei in Tabelle 4 noch ein Versuch mit verschiedenen Aussaatzeiten von flugbrandhaltiger Wintergerste (28. August, 15. September und 1. Oktober) wiedergegeben. Hier sind trotz der recht ungleichen Aussaatzeiten keine Unterschiede im Flugbrandbefall zu beobachten. Wenn bei der letzten Aussaat vom 1. Oktober geringere Brandährenzahlen vorliegen, so ist der Unterschied nur ein scheinbarer; denn die spät gesäten Parzellen haben infolge der mangelhaften Bestockung eine ganz wesentlich geringere Zahl von Ähren – natürlich auch von Brandähren gebildet, so daß also, bezogen auf die Ährenzahl, *gleiche* Brandprozente vorliegen.

TABELLE 4. Flugbrandbefall von 2 Wintergerstensorten bei verschiedener Aussaat.
Versuchsbeginn: 28. August bis 1 Oktober 1951.

Nr	Sorte	Aussaat	Stand der Parzellen	Brandähren
1	Friedrichswerther Berg Wintergerste	28. Aug.	normal bestockt	383
2	Friedrichswerther Berg Wintergerste	15. Sept.	normal bestockt	393
3	Friedrichswerther Berg-Wintergerste	1. Okt.	ungleich schwächer bestockt, deshalb wesentlich geringere Halmzahlen	258
4	Carstens 2-zeilige Wintergerste	28. Aug.	normal bestockt	513
5	Carstens 2-zeilige Wintergerste	15. Sept.	normal bestockt	523
6	Carstens 2-zeilige Wintergerste	1. Okt.	ungleich schwächer bestockt, deshalb wesentlich geringere Halmzahlen	277

Unsere Feststellung, daß tiefe Temperaturen den Flugbrandbefall stark, zum Teil bis zum Nullpunkt herabsetzen, gilt also, um es nochmals zu betonen, für die *ersten Keimungsstadien*. Damit aber gewinnt die bekannte Tatsache, daß Sommerweizen im allgemeinen meist stärker unter Flugbrand leiden als Winterweizen, ein neues Gesicht. Winterweizen wird meist relativ spät, also dann gesät, wenn die Bodentemperatur abgesunken ist, während die erste Entwicklung des Sommerweizens in Zeiten fällt, in denen die in den obigen Versuchen nachgewiesene flugbrandhemmende Wirkung tiefer Keimungstemperaturen kaum zur Auswirkung kommt. Andererseits wird Wintergerste früh und damit ebenfalls unter Bedingungen gesät, die keine flugbrandhemmende Wirkung tiefer Temperaturen zustande kommen lassen. Vielleicht findet also das gegensätzliche Verhalten von Wintergerste und Winterweizen auf dem eben angegebenen Wege eine einfache natürliche Erklärung. Damit soll aber natürlich nichts gegen die Bedeutung der Flugbrandrassen für die Flugbrandanfälligkeit der einzelnen Sorten gesagt werden.

Es ist mir im übrigen eine angenehme Pflicht, Frl. Dr. Rapsch, in deren Händen weitgehend die praktische Durchführung der im vorstehenden besprochenen Versuche lag, für ihre sorgfältige und oft recht mühevollen Mitarbeit meinen Dank auszusprechen.

VARIATIES OP WESTERDIJKS RANGSCHIKKING DER PLANTENZIEKTEN

DOOR

H. M. QUANJER

In woord en geschrift is zeer veel uitgegaan van JOHANNA WESTERDIJK en haar school. Wanneer ik uit deze verscheidenheid één geschrift kies om daar nader op in te gaan, is het niet omdat de andere mij niet interesseren, maar omdat vooral dit ene inspirerend op mij heeft gewerkt. Op bescheiden wijze voegde de schrijfster haar naam toe aan die van OTTO APPEL, maar wij wisten nog niet, toen dit geschrift in 1919 in het „Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten“ verscheen, dat WESTERDIJK zich in haar verdere werkzaamheid aan het toen ontwikkelde stelsel van onderwijs zou houden. De moeilijkheden, die zij hierbij moest overwinnen, zullen niet gering geweest zijn. In een mycologisch systeem behoeften, afgezien van enkele nieuwe vondsten, geen veranderingen te worden aangebracht gedurende de 33 jaren, die sedert de verschijning van haar artikel zijn verstreken; een pathologisch systeem echter, dat de plant als actief wezen op de voorgrond plaatst, moest in die tijd vrijwel geheel worden opgebouwd. Want men moet het niet zo beschouwen, dat zij zich eng aan de destijds gegeven indeling heeft kunnen houden; naarmate zich de wetenschap verdiepte moet ook haar indeling waardevoller zijn geworden. Hoe dit zij, aan haar geschrift had ik impulsen voor mijn eigen onderwijs te danken. Elk jaar trachtte ik de materie opnieuw te rangschikken en werden de afwijkingen van haar originele opzet groter. Ik neem nu de vrijheid mijn collega aan te bieden 14 overwegingen op grond van welke ik na verloop van tijd tot een indeling in evenveel ziektypen kwam, hoe gebrekkig die dan ook nog steeds moge zijn.

1. De plant is een object, dat tot in zijn kernen geschokt moet zijn bij erfelijke afwijkingen, zoals wij die kennen in vele chlorophyldefecten en monstrositeiten.

2. Plasmatisch reageert zij op afwijkingen in de voeding, zoals die o.a. voorkomen onder de invloed van klimaat en bodem. Elk gebrek aan een bepaald element openbaart zich op zijn eigen karakteristieke wijze, maar toch steeds in de plant als geheel.

3. Bijna als geheel wordt de plant ook aangegrepen door viren, die de protoplasten aantasten en zich door de plasmodesmen over een groot gedeelte der levende cellen, ook die der zeefvaten, uitbreiden. Er kan hier strijd zijn, waarvan de gevolgen als necrose zichtbaar worden.

4. Slechts weinig minder algemeen is de uitbreiding van sommige in de houtvaten groeiende schimmels, die door hun vergiften het systeem, waarin zij parasiteren, verlammen.

5. Vele „valse meeldauw“ zwammen volgen het systeem der intercellulairen, van waaruit zij met „haustoriën“ in de cellen binnendringen. Sommige kunnen er een heel eind in groeien, zij verraden hun aanwezigheid door het uit de huidmondjes naar buiten tredende dons („downy mildew“). Het weerstandskrachtige plantenras past necrose als strijdmiddel toe.

6. Brandzwammen volgen meestal een dergelijke weg om tenslotte gehele weefselgroepen in hun „brandmassa's“ om te zetten. Ook hier necrose bij resistente rassen (OORT).

7. Roestzwammen, eveneens intercellulair groeiend en haustoriën vormend, laten zich in de regel door de plant meer in de perken houden, maar waar zij aan de oppervlakte verschijnen, zijn zij zeer typisch. Necrose bij resistente rassen.

8. Echte meeldauwzwammen beperken zich meestal tot parasitisme in de epidermiscellen met „meeldauw”-vorming aan de oppervlakte („powdery mildew”). Bij het weerstandskrachtige plantenras necrose.

9. Ten opzichte van sommige harer vijanden kan men de plant beschuldigen van collaboratie, die zich door hyperplasie verraadt. Necrose bij resistente rassen.

10. Ten opzichte van andere parasieten reageert de plant op zichtbare wijze in het groeiseizoen; in andere tijden staat zij er machteloos tegenover (o.a. *Nectria*-kanker, *Larix*-kanker en *Phytophthora syringae* DE BRUYN).

11. Groot is het aantal zwammen, die de plant juist genoeg weet in te perken om een karakteristiek beeld van meer of minder in omtrek of diepte begrensde vlekken te doen ontstaan (KERLING).

12. Tegen zeer vele parasieten, die het op haar teerste, veelal weerloze of rijpe delen begrepen hebben, reageert de plant niet, zij staat er vrijwel machteloos tegenover, hetgeen blijkt uit het weggroten van zulke delen.

13. Soms verraadt zich een wortelaantasting door het kwijnen en verkleuren der bovengrondse plantendelen. Wanneer dan geen typische wortelzwammen, ondergrondse hyperplasiën, naar buiten barstende wortelaaltjes of typische vreterij te vinden is, kan het gebeuren, dat men te maken heeft met een ziekte, waarvoor wel een woord (bijv. „moeheid”, „wortelkanker”, „mentek”, „aardstraal”-werking) bestaat, terwijl „Begriffe fehlen”. Op dit gebied moet nog veel onderzoek verricht worden.

14. Na te gaan hoe planten in vorm en kleur, uit- en inwendig, reageren op het zuigen, schaven en vreten van gelede dieren en nematoden is een studie, die de entomologen en nematologen ten deel valt, maar die toch wel degelijk ook behoort tot de plantenpathologie, zoals alleen reeds blijkt uit namen als „rondknop”, „wormstekigheid”, „draaihartigheid”, „waldhoren” enz. enz. Er zijn meer analogieën, zoals de resistentie van appelrassen tegen bloedluis en van wijnstokrassen tegen druifluis, die op necrotische reacties berust.

In 1919 was JOHANNA WESTERDIJKS systeem van onderwijs revolutionnair. Revoluties hebben de neiging zich uit te breiden over aangrenzende gebieden, zoals uit het bovenstaande moge blijken. Mochten onze entomologen en nematologen hun aandeel als bindend element hierbij voegen, dan zou er een gezamenlijk schema kunnen worden opgesteld. Dan zou ook de tijd gekomen zijn tot het opstellen van een „summary”, dat buitenlandse vakgenoten er toe zou kunnen brengen het hunne bij te dragen tot ons systeem ener ziekteleer der planten op pathologische grondslag.

GENERIC CONCEPTS IN THE PYTHIACEAE

BY

JOHN T. MIDDLETON

University of California, Riverside, California, U.S.A.

The family Pythiaceae was created by SCHRÖTER (1897) to embrace the genera *Pythium*, described by PRINGSHEIM (1858), and *Nematosporangium*, originally described by FISCHER (1892) as a subgenus of *Pythium*. SCHRÖTER considered the Pythiaceae to be one of three families of the Saprolegniales while FISCHER considered that *Pythium* should be assigned to the single family Peronosporaceae of the Peronosporales. DE BARY (1863) founded the Peronosporaceae for a group of parasitic fungi of the genus *Peronospora*, to which he (1876) later added the genus *Phytophthora*. The similarity of *Peronospora*, *Phytophthora*, and *Pythium* led DE BARY (1881) to conclude that they all should be contained within the Peronosporaceae. Various authors concurred in this placement for the genera until FITZPATRICK (1923) proposed that *Phytophthora*, *Pythium*, and related genera which display successive development of sporangia, the absence of well-defined sporangiophores, and, less typically, deciduous sporangia, be maintained as congeners of the Pythiaceae. *Plasmopara*, *Peronospora*, and related genera which produce their typically deciduous sporangia simultaneously on well-defined sporangiophores were separated from the Pythiaceae and were maintained as congeners of the Peronosporaceae. Both families were treated as subdivision of the Peronosporales. This scheme of classification is employed by the writer and has been adopted by BUTLER and JONES (1949), GWYNNE-VAUGHAN and BARNES (1927), MATTHEWS (1931), TUCKER (1930), and others.

PYTHIUM

The genus *Pythium* was characterized by PRINGSHEIM as producing its swarm-spores from the contents of the sporangium outside the sporangial opening and forming a single oospore within each oogonium. The type species, *P. monospermum* Prings., was described as possessing filamentous sporangia not unlike the hyphae. A single thick-walled oospore was formed that filled the spherical oogonium. The antheridia described and figured were all paragynous. Species have subsequently been described which resemble the type in having filamentous sporangia that are undifferentiated from the vegetative hyphae as in *P. gracile* Schenk, others in which the sporangia are filamentous but inflated as represented by *P. indigoferae* Butler, still others in which the sporangia are spherical and proliferous as in *P. proliferum* de Bary, and yet others with obovoid, conspicuously papillate sporangia as found in *P. helicoides* Drechs. All of these species with various sporangial forms possess spherical oogonia, paragynous antheridia, and typically contain a single oospore in each oogonium.

The mode of zoospore formation in these several examples is likewise similar. The production of zoospores is admirably described by BUTLER (1907) in his excellent account of the genus *Pythium*. He shows that the sporangia of both filamentous and spheroidal species germinate by the production of a discharge tube or beak that forms at some distance from the supporting sporangiophore from a swelling of the sporangial wall and the protrusion of the endosporangial lining. This hyaline cap or papilla continues to elongate and finally at its apex

swells into a more or less spherical, thin-walled, evanescent vesicle into which the contents of the sporangium flow and where the final fashioning of the laterally biflagellate zoospores occurs. The length of the discharge tube varies greatly not only within a single species but between different species, and may even be absent and result in a sessile vesicle as in *P. proliferum*, or be long and tenuous and form the apical vesicle as much as 500 μ from the sporangium as in *P. gracile*. The similarity in oospore production and zoospore formation in these diverse sporangial types precludes dividing the genus into *Nematosporangium* and *Pythium* as advocated by SCHRÖTER, FITZPATRICK, and SIDERIS (1930). Further evidence for maintaining all these sporangial forms within the genus *Pythium* is given by MIDDLETON (1943).

EDSON (1915) described *Rheosporangium aphanidermatus* Eds. as the cause of seedling disease of *Beta vulgaris* L. COKER (1923) reported that this fungus should be considered a species of *Pythium*. FITZPATRICK concurred in this opinion and after comparing it with *Pythium* placed the fungus under the binomial *P. aphanidermatum* (Eds.) Fitz. SPARROW (1931) suggested that *Rheosporangium* may be a suitable name for species of *Pythium* with inflated filamentous sporangia. Since the fusion organs and mode of zoospore formation are similar in noninflated and inflated filamentous and spheroidal sporangial types, nothing is to be gained by placing noninflated filamentous sporangial species in *Nematosporangium* and inflated filamentous sporangial species in *Rheosporangium*. These genera should be abandoned in favor of *Pythium*.

The Pythiaceae bear many resemblances to the Lagenidiaceae both in respect to fusion organs and the formation of the laterally biflagellate zoospores. The Lagenidiaceae differ markedly from the Pythiaceae in that they are endobiotic and holocarpic. The site of zoospore formation in *Myzocyttium* is variable. SPARROW (1936) reported that in *M. zoophthorum* Sparrow the zoospores are partially or wholly delimited within the sporangium, discharged through the emission tube, and mature at its apex in the absence of a vesicle. In *M. proliferum* Schenk, SPARROW (1943) showed that the zoospores mature in the evanescent vesicle. In *Lagenidium marchalianum* de Wildeman the zoospores are delimited within the sporangium and complete their maturation at the orifice of the discharge tube concurrent with the disintegration of the vesicle. In *L. entophyllum* (Prings.) Zopf zoospores are formed in the vesicle.

The site of zoospore formation is also variable in *Pythium*. MIDDLETON indicated that sometimes the contents of the vesicle in *Pythium* was discharged in an undifferentiated state and that zoospores were delineated exogenously. Further study has revealed that zoospores may be formed within the sporangium in *P. irregulare* Buis. and *P. vexans* and that they escape through the orifice of the sporangial apex into the vesicle which disintegrates prior to the complete emptying of the sporangium. Occasionally the sporangial contents of *P. indigoferae* and *P. mamillatum* Meurs have been observed to spew out through the discharge tube into the surrounding water without being contained in a vesicle and to subsequently form zoospores. In other instances the contents have been partially delineated in the sporangium and are discharged through a short, stout, emission tube and complete their formation within the vesicle, then being released by rupture of the containing wall.

The sporangia of some *Pythium* species, such as *P. splendens* Braun, rarely germinate by production of zoospores but renew growth through the formation

of from one to several germ tubes. The sporangia of *P. ultimum* Trow were described as germinating only by germ tubes. ANGELL (1950) indicated that the generic name of *P. ultimum* apparently needs revision since the sporangia of the genus are typified by the production of zoospores. ARK and MIDDLETON (1949) reported the sporangia of *P. ultimum* commonly germinated by production of zoospores rather than germ tubes and although this mode of germination is unusual it cannot be considered phenomenon alien to the species. It is perhaps appropriate to report here that a number of single sporangial cultures out of several hundred made from *P. ultimum* yielded lines that germinated by formation of zoospores. Similar handling of *P. splendens* likewise yielded lines that readily produced zoospores. It is interesting to note that in this species a few lines were also secured that readily formed fusion organs, whereas the occurrence of these structures is usually rare. The variation in the shape of the sporangia, the variation in type of germination and site of zoospore formation, and the regulation of these processes by environmental conditions suggest that these features have limited value as taxonomic criteria.

The sporangiophores in *Pythium* are characteristically poorly defined and usually support a single sporangium either as an intercalary or as an acrogenous structure. A few, such as *P. splendens*, bear their sporangia on a simple sympodial sporangiophore, but without nodal swelling at the point of sporangial attachment. Others, such as *P. intermedium* de Bary, produce catenulate sporangia at the tip of a simple, unbranched sporangiophore. Still others, such as *P. proliferum*, show proliferation of the sporangiophore.

Pythium spp. can usually be recognized by the appearance of their fusion organs. Although the oogonia may be echinulate or smooth, they rarely contain more than a single oospore. The antheridia are typically paragynous and never amphigynous. A very few species, such as *P. hypogynum* Middleton, exhibit antheridial cells enclosed within the oogonial stalk. It may be that *Pythium* is most readily distinguished from *Phytophthora* on the basis of these antheridial habits and the occurrence of filamentous and generally inconspicuously papillate spheroidal sporangia.

PHYTOPHTHORA

The genus *Phytophthora* was established by DE BARY following his research into the life history of the potato fungus. He described it as having acrogenous, obovoid, papillate sporangia borne on branched sporangiophores, with sporangia successively produced by continued growth of the branches. As the branch elongates the sporangium is pushed more or less to one side by an unequal swelling of the point to which it is attached. The node-like swellings of the sporangiophore are a conspicuous feature of the type species, *P. infestans* (Mont.) de Bary. The sporangia abstrict, and when lodged in water, germinate by the production of zoospores within the sporangium which are discharged through the disruption of the apical papilla. DE BARY did not observe oogonia, antheridia, or oospores. CLINTON (1910) discovered these structures in culture, but it remained for PETHYBRIDGE and MURPHY (1913) to demonstrate the origin and disposition of the oogonium and antheridium. They found the fusion organs in *P. infestans* were similar to those described by PETHYBRIDGE (1913) for *P. erythroseptica* Pethy. in which the oogonial incept grew up through the antheridial incept with the result that the basal part of the oogonium was

within and surrounded by the antheridium. This type of antheridium is termed amphigynous as opposed to paragynous in which the antheridium is applied to the side of the oogonium and does not encircle its base.

The discovery of amphigyny in the type species *Phytophthora infestans* led PETHYBRIDGE to conclude that species with amphigynous antheridia, such as *P. erythroseptica*, *P. infestans*, and *P. phaseoli* Thax., should only be placed in the genus *Phytophthora*, and that other species described as *Phytophthora* but possessing paragynous antheridia, such as *P. cactorum* (L. and C.) SCHRÖT. and *P. syringae* Kleb., should be withdrawn and assigned to the newly created genus *Nozemia*. WILSON (1914) favored this separation of species and showed that the genus *Phloeophthora*, proposed by KLEBAHN (1905) for the incompletely described fungus that KLEBAHN (1909) later found to be *Phytophthora syringae*, had priority over *Nozemia*. *Nozemia* was discarded by LAFFERTY and PETHYBRIDGE (1922) after discovering that amphigynous antheridia sometimes occurred in cultures of *P. cactorum* and *P. syringae*. Other species, such as *P. hibernalis* Carne and *P. porri* Foister, also exhibit both amphigynous and paragynous antheridia.

A number of other genera have been described which would appear inseparable from *Phytophthora*. FITZPATRICK (1930) considers the genus *Kawakamia* described by MIYABE to be synonymous with *Phytophthora*. The presence of a pedicel attached to the abstricted sporangium characterizes *Kawakamia*, the fungus in other respects resembles *Phytophthora*. BLACKWELL (1949) described and illustrated the form and nature of the pedicel in her unusually definitive treatise on terminology in *Phytophthora* and conclusively demonstrated the pedicellate nature of the sporangia in *P. infestans*. Since pedicels are common to the type species there is no basis for retention of the genus *Kawakamia*.

Pythiacystis was created by SMITH and SMITH (1906) with the type *P. citrophthora* representing a parasite of citrus fruit. BARRETT (1917), FAWCETT (1920), and FITZPATRICK (1923) all indicated that *Pythiacystis* should apparently be merged with *Phytophthora* since the sporangiophores, sporangia, and production of zoospores were features common to both genera. Their synonymy was finally described by LEONIAN (1925).

PETERSEN (1909) described *Pythiomorpha* as a new genus on the basis of the production of zoospores within the sporangium and their liberation in the absence of a vesicle. The type species, *P. gonapodyides* Petersen, produced ovoid, proliferating sporangia, and was found on decaying organic material in water. The features which distinguish this fungus from *Phytophthora* are not obvious. BUISMAN (1927), a student of Prof. Dr JOHANNA WESTERDIJK, demonstrated in her discerning study of root rots incited by Phycomycetes, that the proliferous nature of the sporangia of *Pythiomorpha* was insufficient reason to separate the genus from *Phytophthora* which also proliferate their sporangia. She further noted that the occurrence of *Pythiomorpha* on organic matter in water is no reason for excluding it from *Phytophthora*. FITZPATRICK concurred in this disposition. Further evidence for combining the two genera is given in an exhaustive study by BLACKWELL, WATERHOUSE, and THOMPSON (1941).

BUISMAN was also alert to the similarity of *Blepharospora* to *Phytophthora*. The chestnut fungus, *B. cambivora* Petri (1918) was characterized by the infrequent production of inconspicuously papillate, proliferous sporangia which were borne on long, unbranched sporangiophores. Zoospores were produced

within the sporangium and escaped through rupture of the apical papilla. BUISMAN demonstrated that these characters are not unique to *Blepharospora*, but occur also in *Phytophthora*, and recommended the merger of the two genera. TUCKER concurred in the transfer of *Blepharospora* to *Phytophthora*.

SIDERIS and PAXTON (1930) mentioned the association of *Pseudopythium phytophthoron* with pineapple fruits. In the absence of a published description by the authors the name becomes a *nomen nudum*. MEHRlich (1932) presented conclusive evidence that this fungus is actually *Phytophthora cinnamomi* Rands. This instance is a good example of the difficulties encountered in attempting to describe members of the Pythiaceae solely on the basis of vegetative characteristics.

The formation of zoospores in *Phytophthora* has been reported by many mycologists and has been ably summarized by TUCKER and discussed and illustrated by BLACKWELL. The zoospores are typically delineated within the sporangium, escape through the apical aperture by dissolution of the papilla, and are occasionally briefly contained within the sessile evanescent vesicle. This process is not unique to *Phytophthora* as a similar process occurs in *Araiospora*, *Rhipidium*, and *Sapromyces*, of the Rhipidiaceae, and in *Basidiophora*, *Plasmopara*, *Peronoplasmodium*, some species of *Sclerospora*, and in some other members of the Peronosporaceae.

Zoospores are formed in the sporangium in *Sapromyces* and escape either directly into the surrounding medium or into the evanescent vesicle which ruptures and effects their release. *Sapromyces* sporangia also germinate by emitting their undifferentiated contents and forming zoospores exogenously. *Araiospora* and *Rhipidium* usually form their zoospores in the sporangia and release them through the ruptured papilla; the zoospores may or may not be temporarily confined by a vesicle. The fashioning of zoospores occasionally takes place in the vesicle. Sporangia sometimes germinate by germ tubes.

The germination of sporangia of *Plasmopara* is similar to that described for *Sapromyces* and *Pythiogeton*, while in the other mentioned genera of Peronosporaceae germination is more typically similar to *Phytophthora*.

DASTUR (1913), ROSENBAUM (1917), and BLACKWELL described and illustrated the formation of zoospores within the sporangium of *Phytophthora* and their movement into the vesicle prior to their release upon the disappearance of the vesicle. Sporangia of *P. cryptogea* Pethy. and Laff., *P. palmivora* Butler, and *P. parasitica* Dastur sometimes show protoplasmic cleavage within the sporangium and final zoospore fashioning in the sessile apical vesicle. At other times, notably in *P. palmivora*, the vesicle may be borne on a short stalk. Zoospores are occasionally formed in a stalked evanescent vesicle from apparently undifferentiated sporangial protoplasm.

The generic distinctions offered by BLACKWELL for the segregation of *Phytophthora*, *Pythiogeton*, and *Pythium* are clearly and convincingly presented. The application of the principle of place of sporulation is precluded by the gradation and overlapping of time of maturation, and multiplicity of form of germination known to occur. The inherent variability of biological material does not readily allow application of static descriptive taxonomic criteria.

Species of *Phytophthora*, like *Pythium*, are usually recognized without observations of zoospore formation. The morphology of the vegetative structures, sporangia, and organs of fusion provide the features necessary for identifica-

tion. *Phytophthora* differs from *Pythium* in the production of compound sym-podial sporangiophores, formation of nodal swellings on the sporangiophores, absence of filamentous sporangia, and the development of amphigynous antheridia. *Phytophthora* is usually considered to be somewhat more parasitic and less saprophytic than *Pythium* but the research of DE BRUYN (1922) convincingly demonstrates the saprophytic ability of *Phytophthora*. CANTINO (1950) suggests a phylogenetic difference between *Phytophthora* and other members of the Pythiaceae based on their nutritional requirements.

Despite variability in type of germination of vegetative reproductive structures and in the site of spore formation, these characters can still be considered indicative of generic distinction; however their usefulness should not be over-emphasized. There are several features which may serve to distinguish *Phytophthora* from *Pythium*. Branched sporangiophores are not uncommon in *Phytophthora* but are uncommon in *Pythium*. Sporangia of *Phytophthora* are usually ovoid or obpyriform and often bear a conspicuous papilla while those of *Pythium* are generally filamentous, spheroidal, not often ovoid, and rarely bear a conspicuous papilla.

Perhaps the basic difference between *Pythium* and *Phytophthora* is the presence of amphigyny in *Phytophthora* and its absence in *Pythium*. This feature is unique to the Pythiaceae and not only provides an easily recognized structure, but exhibits an unusual developmental process. Additional support for this concept comes from the presence of amphigyny in the type species of *Phytophthora*.

PYTHIOGETON

Pythiogeton was erected by v. MINDEN (1916) to contain fungi that produce asymmetrical, proliferous or nonproliferous sporangia oriented with their long axes at right angles to the sporangiophore and that germinate by zoospores. A thin-walled, usually greatly elongated vesicle is formed at the narrowed end of the sporangium. The vesicle ruptures subsequent to the flow of sporangial contents into it and the zoospores are formed from the naked protoplast. The organs of fusion are not well known and their production has been observed largely in mass water cultures. A single oospore is formed in each oogonium fertilized by paragynous antheridia. The antheridial stalk often coils about the oogonial stalk, or the stalks of both may become entwined. Further information on the organs of fusion and their association with vegetative reproductive structures is required before the status of the genus can adequately be appraised.

Pythiogeton is usually distinguished from *Pythium* by its asymmetrical sporangia and the production of zoospores from the naked sporangial contents left upon collapse of the evanescent vesicle. Asymmetrical sporangia occur in several species of *Pythium*, particularly *P. marsipium* Drechs. Zoospores in this species are usually formed within the vesicle before it deliquesces. Zoospores in *P. volutum* Vanterpool, *P. irregulare*, and *P. vexans* sometimes arise from a naked protoplast resulting from the destruction of the vesicle. Though these occurrences may be irregular and atypical, they nonetheless demonstrate that sporangia have the propensity to produce zoospores from an extruded naked bit of protoplasm outside the sporangium and in the absence of a vesicle.

Retention of the genus *Pythiogeton* is suggested pending additional information pertinent to taxonomic criteria allowing its distinction from congeners of the Pythiaceae.

ZOOPHAGUS

SPARROW (1943) considered *Zoophagus* Sommerstorff to be a member of the Pythiaceae. *Zoophagus* possesses filamentous sporangia which produce zoospores in a terminal evanescent vesicle. A single oospore is formed within the oogonia following fertilization by paragynous antheridia. FITZPATRICK (1930) contended that the reproductive structures exemplified by *Zoophagus* are too similar to *Pythium* to justify recognition of *Zoophagus* as a separate genus. Observations of *Zoophagus* by the writer have shown that zoospores may be produced either in an acrogenous vesicle arising from a filamentous sporangium or from what appeared to be a naked protoplast at the apex of a short discharge tube in the absence of an organized vesicle. Fusion organs agreed with those described for the genus. Attempts to grow the fungus in pure culture on synthetic substrates were unsuccessful. A curious feature of the genus is the production of short, lateral, branched or unbranched hyphal extensions which serve to capture rotifers and other small aquatic animals. Although KARLING (1936) reported production of filamentous, unicellular, lateral vegetative structures which act as reproductive bodies in *Z. tentaculum* Karling, it seems unlikely that the fungus is a conidial Phycomycete. Until *Zoophagus* can be further studied, preferably in pure culture, it is proposed that it be retained as a genus closely related to *Pythium* but differing from it in possessing specialized vegetative structures used for the capture of small, water inhabiting animals.

DIASPORANGIUM

The genus *Diasporangium* was created by HÖHNK (1936) and *D. jonesianum* designated as the type species. The fungus was found in soil in association with *Pythium* and *Dictyuchus* and is only known from the original report. Sporangia are borne on short lateral branches arranged in whorls about the supporting hypha. They are at first spherical, but at maturity are more or less limoniform and oriented with the long axis at right angles to the sporangiophore. The sporangia germinate by the production of laterally biflagellate zoospores within the sporangium and without formation of a vesicle, by the emission of the naked protoplasm of the sporangium and its subsequent division into spherical masses representing zoospores, or by germ tubes. HÖHNK considered *Diasporangium* distinct from *Pythiogeton* by virtue of the symmetrical sporangia and the passive rather than forceful emission of the sporangial protoplasm. *Diasporangium* obviously differs from *Pythiogeton* by producing sporangia in whorls, which may possibly be a close monochasial sympodium: whether generic distinction on this basis is tenable will depend upon further study of the fungus and related species.

TRACHYSPHAERA

Trachysphaera fructigena Tabor and Bunting (1923) was described as a new genus and species for the fungus inciting the mealy pod disease of cocoa. With the possible exception of the oogonial protuberances, the fusion organs are identical to those of amphigynous *Phytophthora*. The vegetative reproductive structures are spherical, strongly echinulate, and are borne on short, rather tenuous stalks which may arise either singly from a simple vegetative branch, or in whorls from a swollen node of the branch. TABOR and BUNTING refer to the spiny vegetative reproductive bodies as conidia since they germinate only

by the production of germ tubes. This condition may be analagous to that in *Pythium ultimum*. The production of spiny vegetative spores in whorls is indeed a unique feature, though their origin from swollen nodes is reminiscent of some species of *Phytophthora*. These organs differ from those of *Phytophthora* in being supported by secondary sporangiophores. *Trachysphaera* is obviously closely allied to *Phytophthora* but is retained as a distinct genus because of the type and form of the vegetative reproductive structures.

STIGEOSPORIUM

WEST (1916) assigned the binomial *Stigeosporium marattiacearum* West to a fungus occurring in the roots of several ferns, attributing the absence of fusion organs and the modification of vegetative reproductive bodies to its peculiar habitat. He reported the similarity of the fungus to *Phytophthora* in producing thick-walled spores resembling chlamydospores and the presence of hyphal elements resembling haustoria. GWYNNE-VAUGHAN and BARNES agreed that it bears some resemblance to *Phytophthora* and may be a member of the Pythiaceae. FITZPATRICK (1930) believed the fungus to be completely dissimilar from *Phytophthora* and perhaps related to *Allomyces* or *Blastocladia*. BUTLER (1938) contented that in spite of the curious chlamydospores observed in *Stigeosporium* their presence did not warrant retention of the genus. He considered it to be synonymous with *Rhizophagus*, an imperfect genus of the Endogonaceae. *Stigeosporium* therefore can be considered neither a valid genus nor a member of the Pythiaceae.

DISCUSSION

The foregoing discussion has shown that sporangia of the Pythiaceae germinate by the production of germ tubes and laterally biflagellate zoospores. Neither form of germination is unique to the Pythiaceae and is found in at least the Rhipidiaceae, Lagenidiaceae, and Peronosporaceae. Germ tubes permit renewed growth of the organism from sporangia, zoospores, or naked sporangial contents. Zoospores are produced from sporangia and naked sporangial contents. The site of zoospore formation is as variable within genera as it is between genera and therefore is of doubtful taxonomic value and significance. The typically monosporic oogonia of the Pythiaceae are also found in other families of the Phycomycetes. The oospores of the Pythiaceae differ from those of related groups in having an extremely thin episporium which is very difficult to distinguish from the outer oospore wall formed from the ooplasm. The thickness of the oospore is largely due to the size of the endospore wall. The character of the eucarpic thallus separates the genera of the Pythiaceae from the Rhipidiaceae and the holocarpic Lagenidiaceae. The Pythiaceae differ from the Peronosporaceae in producing their sporangia successively.

The writer suggests generic segregation into two groups on the basis of antheridial characters. *Pythium* and *Zoophagus* would represent one group in which the antheridia are hypogynous, paragynous and morphologically unidentifiable but in which antheridial nuclei are produced. *Phytophthora* and *Trachysphaera* would represent another group in which the antheridia are amphigynous and paragynous. The genera *Pythiogeton* and *Diasporangium* may be maintained or merged with *Pythium* depending upon the outcome of future studies on the significance of their sporangial form, mode of germination, and

nature of the fusion organs. *Zoophagus* may be separated from *Pythium* by its production of specialized vegetative processes serving to capture small aquatic animals. *Trachysphaera* may be distinguished from *Phytophthora* by its sporangia. This concept recognizes priority of description and provides a morphologic basis for generic distinction; use of the mode of sporangial germination, which may be regulated by environmental conditions, is thereby avoided as a taxonomic feature.

ACKNOWLEDGEMENT

The writer wishes to express sincere thanks to Miss GRACE M. WATERHOUSE of the Commonwealth Mycological Institute, Kew, and Dr ELIZABETH M. BLACKWELL, formerly of Royal Holloway College, England, for their generosity and kindness in providing facilities and much valued counsel in this work. Thanks are especially extended to Prof. Dr JOHANNA WESTERDIJK for the hospitality and many courtesies given the writer while studying the excellent collection of the Pythiaceae maintained at the Centraalbureau voor Schimmelfcultures, Baarn, Netherlands. It is a memorable experience to enter the portal marked „Werken en feesten vormt schone geesten” and the writer shall long remember the very cordial welcome afforded by Prof. WESTERDIJK and her associates.

- ANGELL, H. R., 1950. Seedling blight. Austral. J. Agr. Res. 1 : 33-42.
- ARK, P. A., and MIDDLETON J. T. 1949. *Pythium* black rot of *Catleya*. *Phytopathology* 39: 1060-1064.
- BARRETT, J. T., 1917. *Pythiacystis* related to *Phytophthora*. *Phytopathology* 7 : 150-151.
- BARY, A. DE, 1863. Recherches sur le developpement de quelques champignons parasites. *Ann. Sc. Nat.* 4me Ser. 20 : 5-148.
- BARY, A. DE, 1876. Researches into the nature of the potato-fungus *Phytophthora infestans*. *J. Roy. Agr. Soc.* 12 : 239-269.
- BARY, A. DE, 1881. Zur Kenntniss der Peronosporaeen. *Bot. Ztg.* 39 : 521-625.
- BLACKWELL, E. 1949. Terminology in *Phytophthora*. *Com. Mycol. Inst. Mycol. Pap.* 30 : 1-24.
- BLACKWELL, E., G. M. WATERHOUSE, and M. V. THOMPSON, 1941. The invalidity of the genus *Pythiomorpha*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 25 : 148-165.
- BRUYN, H. L. G. DE, 1922. The saprophytic life of *Phytophthora* in the soil. *Meded. Landbouwhoogeschool* 24 : 1-38.
- BUISMAN, C. J., 1927. Root rots caused by *Phycomycetes*. *Diss. Utrecht* : 1-51.
- BUILER, E. J., 1907. An account of the genus *Pythium* and some *Chytridiaceae*. *Mem. Dept. Agr. India Bot. Ser.* 1 : 1-160.
- BUTLER, E. J., 1938. The occurrences and systematic position of the vesicular-arbuscular type of mycorrhizal fungi. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 12 : 274-301.
- BUTLER, E. J., and S. G. JONES, 1949. *Plant Pathology*. London: 1-979.
- CANTINO, E. C., 1950. Nutrition and phylogeny in the water molds. *Quart. Rev. Biol.* 25 : 269-277.
- CLINTON, G. P., 1910. Oospores of potato blight, *Phytophthora infestans*. *Connecticut Agr. Exp. Sta. Ann. Rept.* : 753-774.
- COKER, W. C., 1923. *The Saprolegniaceae*. Chapel Hill: 1-201.
- DASTUR, J. F., 1913. On *Phytophthora parasitica* nov. spec. *Mem. Dept. Agr. India Bot. Ser.* 5 : 177-231.
- EDSON, H. A., 1915. *Rheosporangium aphanidermatus*, a new genus and species of fungus parasitic on sugar beets and radishes. *J. Agr. Res.* 4 : 279-292.
- FAWCETT, H. S., 1920. *Pythiacystis* and *Phytophthora*. *Phytopathology* 10 : 397-398.
- FISCHER, A., 1892. *Phycomycetes*. *Rabenh. Krypt.-Fl.* 1 : 1-505.
- FITZPATRICK, H. M. 1923. Generic concepts in the Pythiaceae and Blastocladiaceae. *Mycologia* 15 : 166-173.
- FITZPATRICK, H. M., 1930. *The lower fungi*. New York: 1-331.
- GWYNNE-VAUGHAN, H. C. I., and B. BARNES., 1927. *The structure and development of the fungi*. London :1-384.

- HÖHNK, W., 1936. On three pythiaceou^s Oomycetes. Bot. Centbl. 55 : 89–99.
- KARLING, J. S., 1936. A new predacious fungus. Mycologia 28 : 307–320.
- KLEBAHN, H., 1906. Eine neue Pilzkrankheit der Syringen. Centbl. Bakt. II, 15 : 335–336.
- KLEBAHN, H., 1909. Krankheiten des Flieders. Berlin: 1–75.
- LAFFERTY, H. A., and G. H. PETHYBRIDGE. On a Phytophthora parasitic on apple which has both amphigynous and paragynous antheridia and on allied species which show the same phenomenon. Sc. Proc. Roy. Dublin Soc. 17 : 29–43.
- LEONIAN, L. H., 1925. Physiological studies on the genus Phytophthora. Amer. J. Bot. 12 : 444–498.
- MATTHEWS, V. D., 1931. Studies on the genus Pythium. Chapel Hill: 1–136.
- MEHRICH, F. P., 1932. Pseudopythium phytophthoron a synonym of Phytophthora cinnamomi. Mycologia 24 : 453–454.
- MIDDLETON, J. T., 1943. The taxonomy, host range and geographic distribution of the genus Pythium. Mem. Torrey Bot. Club 20 : 1–171.
- MINDEN, M. VON, 1916. Beiträge zur Biologie und Systematik einheimischer submerser Phycomyceten. Falck Mykol. Unters. Ber. 2 : 146–255.
- PETERSEN, H. E., 1909. Studier over Ferskvands-Phykomyceter. Bot. Tidssk. 29 : 345–440.
- PETHYBRIDGE, G. H. 1913. On the rotting of potato tubers by a new species of Phytophthora having a method of Sexual reproduction hitherto undescribed. Sc. Proc. Roy. Dublin Soc. 13 : 529–565.
- PETHYBRIDGE, and P. A. MURPHY. On pure cultures of Phytophthora infestans de Bary, and the development of oospores. Sc. Proc. Roy. Dublin Soc. 13 : 566–588.
- PETRI, L., 1918. Studi sulla malattia del castagno detta „dell’ inchiestro”. Ann. R. Inst. Sup. For. Naz. Firenze 3 : 151–185.
- PRINGSHEIM, N., 1858. Beiträge zur Morphologie und Systematik der Algen. Jahrb. Wiss. Bot. 1 : 284–306.
- ROSENBAUM, J. 1917. Studies on the genus Phytophthora. J. Agr. Res. 8 : 233–276.
- SCHRÖTER, J., 1897. Pythiaceae. Engler u. Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien. 1 : 104–105.
- SIDERIS, C. P., 1931. Taxonomic studies in the family Pythiaceae. Mycologia 23 : 252–295.
- SIDERIS, C. P., and G. E. Paxton., 1930. Heart rot of pineapple plants. Phytopathology 20 : 951–958.
- SMITH, R. E., and E. H. SMITH, 1906. A new fungus of economic importance. Bot. Gaz. 42 : 215–221.
- SPARROW, F. K., Jr, 1931. The classification of Pythium. Science 73 : 41–42.
- SPARROW, F. K., Jr, 1936. A contribution to our knowledge of the aquatic Phycomycetes of Great Britain. J. Linnean Soc. 50 : 417–478.
- SPARROW, F. K., Jr, 1943. Aquatic Phycomycetes. Ann Arbor: 1–785.
- TABOR, R. J., and R. H. BUNTING, 1923. On a disease of cocoa and coffee fruits caused by a fungus hitherto undescribed. Ann. Bot. 37 : 153–157.
- TUCKER, C. M., 1931. Taxonomy of the genus Phytophthora de Bary. Missouri Agr. Exp. St. Res. Bul. 153 : 1–208.
- WEST, C., 1916. Stigeosporium marattiacearum, gen. et sp. nov. Ann. Bot. 30 : 357.
- WILSON, G. W., 1914: Studies in North American Peronosporales. – V. Mycologia 6 : 54–83.

HET OVERGAAN MET ZAAD VAN DE AMERIKAANSE VAATZIEKTE VAN ERWTEN

With a summary: Seed transmission of Fusarium wilt of peas

DOOR

L. C. P. KERLING

Laboratorium voor Phytopathologie, Wageningen

1. INLEIDING

In de zomer van 1951 was het aantal erwtenvelden in Nederland, besmet met de Amerikaanse vaatziekte, aanmerkelijk groter dan in vorige jaren. Hoe deze ziekte, veroorzaakt door *Fusarium oxysporum f. pisi* (LINF.) *ras* 1 SN, et H. zich zo snel kon verspreiden naar ver uiteenliggende percelen, was niet duidelijk. Zeker is verplaatsing van zieke grond een belangrijke factor. Het is nl. gebleken uit het werk van Amerikaanse onderzoekers en uit onderzoek verricht op het Laboratorium voor Phytopathologie te Wageningen, dat een uiterst kleine hoeveelheid besmette grond, gemengd met gestoomde grond in een verhouding 1 : 500, zelfs van 1 : 1000, nog in staat is vatbare erwten in lichte graad ziek te doen worden. Zaait men op dezelfde grond een tweede serie gezonde erwten, dan wordt deze sneller en heviger ziek dan de voorgaande, terwijl in een derde serie de maximum infectiegraad bereikt wordt. De schimmel vermeerdert zich dus in besmette grond onder invloed van een vatbaar erwtengegewas. Daar de schimmel ook onder andere gewassen gedurende lange tijd in de grond kan blijven, zal ongeveer hetzelfde gelden voor erwten, die met tussenpozen van een aantal jaren op eenzelfde besmet veld verbouwd worden.

De vraag deed zich nu voor, of de schimmel, behalve door verplaatsen van besmette gronddeeltjes, ook met zaad zou kunnen overgaan. In besmette velden vindt men aan de rand van plekken, waar het gewas vroegtijdig afstierf, vele planten, die pas in een later stadium aangetast werden en die nog zaad konden zetten. Van deze zaden, die bij de oogst tussen de gezonde terecht komen, is volgens KADOW en JONES (1932) 1 per 5000 besmet, volgens SNYDER (1932 a en b) 1 per 2000. Zodoende zou de ziekte met het zaaizaad naar ver verwijderde streken overgebracht kunnen worden. Voor de Nederlandse erwtenenteelt was het van belang een onderzoek in te stellen naar het voorkomen van zaadbesmetting hier te lande en naar de graad ervan.

2. HET ONDERZOEK EN DE RESULTATEN

a. Veldproeven. Eind Juli 1949 werden van een zieke plek op het terrein van het Laboratorium van laat aangetaste planten (Rondo, Unica en Parel) met de hand rijpe peulen geplukt. Zonder voorafgaande ontsmetting werden de vaak kleine zaden in 1950 uitgezaaid op een perceel gescheurd grasland, waar nog nooit erwten verbouwd waren. Tot begin Juli deden zich geen ziekteverschijnselen voor; latere contrôles waren niet mogelijk. In 1951 werd verdacht Rondozaad van dezelfde partij op hetzelfde perceel uitgezaaid. Begin Juli vertoonden vele verspreide planten duidelijke ziektesymptomen, zoals de geelgrijze kleur, het omkrullen van blaadjes en stipulae en het achterblijven in groei. Een schim-

mel uit de wortels geïsoleerd, werd door middel van inoculatieproeven geïdentificeerd als *Fusarium oxysporum f. pisi ras 1*. Op 13 Juli waren vele planten reeds afgestorven. In 1952 werd op hetzelfde veld gezond Rondo-zaad uitgezaaid. Op 19 Mei waren reeds vele planten duidelijk ziek. De schimmel was dus door de verdachte zaden meegebracht en had zich sterk vermeerderd.

b. Potproeven. Nu rees de vraag of de schimmel zich bevindt op de zaadhuid of in het inwendige der verdachte zaden. In het eerste geval zou de besmetting uit kunnen gaan van aanklevende aardedeeltjes of misschien van macroconidiën. Deze worden gevormd in een wit kraagje rondom de voet van afgestorven planten. Zij worden door de wind verspreid en kunnen op de grond liggende peulen en uitgevallen zaden gemakkelijk besmetten. Door zaadontsmetting zou men deze uitwendig voorkomende infectiebronnen kunnen doden en van de verdachte zaden zou geen gevaar meer te vrezen zijn. In geval van inwendige besmetting zal desinfectie echter vrijwel nutteloos zijn. Zaden van zwaar zieke Rondo-planten werden nu deels ontsmet met 2‰ sublumaat (groep 1), deels met phygon (groep 2) en deels niet ontsmet (groep 3). Van elk dezer groepen werden in 8 potten met gestoomde klei telkens 8 zaden uitgelegd in 3 achtereenvolgende series. Nadat de planten in bloei gekomen waren, werden zij bij de grond afgesneden, de wortels werden door de grond gewerkt, alvorens een volgende serie van 8 < 8 zaden van dezelfde groep in dezelfde potten uitgezaaid werd. In een vierde groep van 8 potten werd als controle gezond Rondo-zaad uitgelegd. Na 3 series werd tenslotte in alle potten gezond ontsmet Rondo-zaad uitgelegd.

TABEL 1. Aantal potten met zieke planten na uitzaaien van verdacht zaad (serie 1-3) en van gezond zaad (serie 4). Ras Rondo.

Table 1. Number of pots with diseased plants after sowing of suspected seeds (series 1-3) and of healthy seeds (series 4). Variety Rondo.

Serie Series	Zaadatum Date of sowing	Aantal potten met zieke planten Number of pots with diseased plants			
		groep 1 ¹⁾ group 1	groep 2 ²⁾ group 2	groep 3 ³⁾ group 3	groep 4 ⁴⁾ group 4
1	20- 8-1951	0	0	0	0
2	18-12-1951	1	1	0	0
3	4- 3-1951	4	4	3	0
4	17- 4-1952	4	5	3	0

In elke groep 8 potten met 8 zaden per serie.

In each group 8 pots with 8 seeds per series.

¹⁾, ²⁾ en ³⁾ Verdachte zaden resp. ontsmet met sublumaat, met phygon en niet ontsmet.

Suspected seeds, respectively disinfected with mercuric chloride, phygon and not disinfected.

⁴⁾ Gezonde zaden ontsmet met sublumaat.

Healthy seeds disinfected with mercuric chloride.

De resultaten zijn weergegeven in tabel 1. In de eerste serie waren geen ziekteverschijnselen te zien. In de tweede serie kwamen zieke planten voor in één pot van groep 1 en in één pot van groep 2. In de derde serie vertoonden vele planten de symptomen, zowel die uit ontsmette als uit niet ontsmette verdachte zaden opgekweekt. Dit was ook het geval in de vierde serie, waar planten, uit gezond

zaad opgekweekt, in besmette grond kwamen. In de contrôlegroep 4 werd geen ziekte waargenomen. Uit deze proef blijkt:

1. De schimmel was aanwezig in het inwendige der zaden, die uitwendig ontsmet waren. De ontsmettingsmiddelen hebben de ontwikkeling niet tegengegaan.
2. Uitwendige besmetting van het zaad is eveneens mogelijk, daar ook de niet ontsmette zaden van groep 3 zieke planten opleverden. In deze groep zou men dan echter na uitzaaien van erwten, die zowel inwendig als uitwendig besmet waren, een groter aantal besmette potten verwachten dan in de groepen 1 en 2. Dit was niet het geval. Het kleine aantal erwten, waarmee gewerkt werd, laat echter gevolgtrekkingen omtrent de afwezigheid van uitwendige besmetting niet toe.
3. Omtrent het $\frac{1}{100}$ besmette zaden kan het volgende opgemerkt worden: In elke pot van de groepen 1, 2 en 3 waren achtereenvolgens $3 \times 8 = 24$ verdachte zaden gebracht. Als de ziekte tenslotte in een pot optrad, moest minstens één van deze 24 de schimmel meegebracht hebben. Uit tabel 1 blijkt, dat in de groepen 1, 2 en 3 resp. minstens 4, 5 en 3 zaden van de totaal per groep uitgelegde $8 \times 24 = 192$ verdachte zaden besmet geweest moeten zijn. Het aantal zieke zaden in de 3 groepen samen moet dus minstens $\frac{3 \times 192}{4 + 5 + 3}$ of 1 per 48 bedragen hebben, dat is ruim $2 \frac{1}{100}$. Dit getal is aanmerkelijk hoger dan dat gevonden door Amerikaanse onderzoekers, die ook series erwten achter elkaar in dezelfde grond uitzaaiden. KADOW en JONES, volgens wie slechts 1 per 5000 zaden besmet was, verwijderden echter elke serie planten reeds na 25 dagen, zonder achterlaten van de wortels. Zodoende lieten zij de *Fusarium* in 3 achtereenvolgende series slechts 75 dagen tijd voor opbouw. In de bovenbeschreven proeven was dit een periode van 250 dagen. Elke kleine hoeveelheid besmettingsmateriaal had zodoende gelegenheid tot vermeerderen.

c. Isolaties. Noch uit de niet-ontsmette zaadhuid, noch door uitleggen van 200 cotylen en embryo's van verdachte ontsmette zaden op agar, kon de pathogene *Fusarium* geïsoleerd worden. Ook aan KADOW en JONES, die hetzelfde deden met 500 zaden, lukte dit niet. Langs deze weg viel niet uit te maken of de schimmel zich op, dan wel in het zaad bevindt. Ook mislukten vele pogingen, zowel van Amerikaanse onderzoekers als te Wageningen, om de schimmel uit stengeldelen te isoleren hoger dan het 5e of 6e internodium (LINFORD, 1928). De schimmel zou dus peul en zaden niet bereiken. KADOW en JONES vonden echter, dat bij zieke planten, geplaatst in vochtige lucht onder een stolp, het mycelium via de steel van de laagste peul tot in de placenta kan doordringen. Mogelijk gebeurt dit in onze regenrijke zomers te velde meer dan in de droge erwtenverbouwde streken in Amerika. Behalve uit het verschil in proefopzet zou het ook hierdoor verklaard kunnen worden, dat het gevonden $\frac{1}{100}$ besmet zaad in Nederland zoveel hoger is dan in Amerika.

Samenvattend kan men zeggen, dat uitzaaien van besmet zaad afkomstig van zieke percelen, een factor is, die de sterke verspreiding van de Amerikaanse vaatziekte in ons land in de hand werkt. Door herhaalde erwtenverbouw, waarschijnlijk ook als een goede vruchtwisseling in acht genomen wordt, kan de schimmel zich ophopen. Zaadontsmetting met phygon of sublimaat heeft geen nut, daar de pathogene *Fusarium* in het zaad aanwezig kan zijn.

3. SUMMARY

During the summer of 1951 there was a further increase in the number of pea growing areas in the Netherlands infected with wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. *pisi* (Linf.) race 1 Sn. et H. It was desired to ascertain whether and to what extent seed gathered from diseased plants (here designated as „suspected seed”) was responsible for the spread of the disease. In the spring of 1950 suspected seed of the variety Rondo was sown in a field ploughed up from grass, which was not known to have been previously cropped with peas. In the summer of that year no symptoms of the disease were observed, but in 1951, when seed from the same sample was sown in the same field, wilting was evident in several places. It would appear that the fungus had been carried on or in the seed, and that it had accumulated in the soil.

Experiments in pots with steamed soil showed that after 3 consecutive sowings of disinfected suspected seeds, a substantial amount of wilt developed. A fourth sowing in the same soil, this time of known healthy seeds, also yielded many wilted plants (Table 1). The seed-dressings used were phygon and mercuric chloride. It is clear from this experiment that the fungus must have been present within the seedcoat and that after it had been introduced into healthy soil, it required growth of 2 or 3 pea crops before its presence became evident. After 3 sowings of suspected seeds without seed-dressing wilting also occurred. The number of plants in the experiment was too small to enable any conclusion to be drawn as to whether the disease was also present on the outside of the seed.

It was estimated that about 2 % of the suspected seeds must have carried the fungus. This is a much higher % than that suggested by American research workers. It seems possible that the higher percentage of infected seed in Holland may be due to the moist summers here.

LITERATUUR

- KADOW, K. J. and JONES, L. K. – 1932. Fusarium wilt of peas with special reference to dissemination. State Coll. Wash. Agr. Exp. St. Bul. 272: 1–30.
LINFORD, M. B. – 1928. A Fusarium wilt of peas in Wisconsin. Wis. Agr. Exp. Sta. Res. Bul. 85: 1–44.
SNYDER, W. C. – 1932a. Seed transmission of Fusarium wilt of pea. Phytopath. 22: 24–25.
SNYDER, W. C. – 1932b. Seed dissemination in Fusarium wilt of pea. Phytopath. 22: 253–257.

THE INFLUENCE OF DAY-LENGTH ON THE HEALTH OF PLANTS

BY

J. W. M. Roodenburg

Laboratory for Light Research in Horticulture, Utrecht

Light as a factor of plant growth is usually spoken of as if it were the simplest thing on earth, for the complex action of solar radiation is not often realized. Most biologists consider a deficiency of light to cause a lack of carbohydrates, as a result of insufficient photosynthesis. During the last decades, however, it has become more and more clear that the duration of the daily light period is decisive for the behaviour of many plant species (photoperiodism). Not only is the formation of flowers often regulated by this factor, but also growth itself. In short days the lengthening of stems and petioles may be retarded: too short days therefore may cause a definite type of stunting. In the course of my investigations on the use of artificial light in plant growth, I have found some instances in which a deficiency of light was not related to photosynthesis. In these instances it was possible to prove that the unhealthy condition of the plants was due to an abnormal photoperiod.

About 1930, at the Horticultural Laboratory of Wageningen, many efforts were made to force *strawberries* early in winter (November). We worked with the best forcing-variety: Deutsch Evern. Soil-mixture, temperature and other conditions received the best possible care. Artificial light was given at night. In spite of these efforts the attempt proved a failure. A few flowers on short stems appeared and developed only small fruits; but the worst feature was a yellow discoloration of the older leaves, which died off, accompanied by *Botrytis* attack. We had to pick the leaves, so that the plants became smaller and smaller.

The same symptoms were observed in a Dutch-light house belonging to the Laboratory, the plants being in such a state that the Phytopathological Service was called into help. No cure for the trouble was found at the time, however. Many years later, from a study of the literature on photoperiodism, I came to the conclusion that, on account of the length of day at this time of the year, nightly illumination of the plants should start at least one month earlier – i.e. at the end of September.

The result of this treatment was amazing; the plants continued their summer type of growth, they developed new leaves with well-extended petioles and leaf-blades; the older leaves remained alive and healthy. The flower stems acquired a good length and many flowers were produced. The intensity of artificial light given was so low that photosynthesis could not have played a part in the result; yet the disease was entirely prevented. The weak incandescent light given during the night hours could have acted only as an artificial lengthening of the short days of autumn. It prevented the strawberry plants from entering their winter rest period and they maintained their summer growth capacity. On the other hand, the non-irradiated plants, kept in the greenhouse at approximately 15 °C, declined steadily; their growth was checked; later, VAN DEN MUYZENBERG (1942) called this a "state of inertness". If they survived the winter, it appeared impossible to stimulate such plants to new growth in the spring. Only winter cold is able to wake them from their state of rest. This is the reason why in

practice the forcing of strawberries is not started before the 1st of January. If started in November with exactly the same plant material, the forcing produces only a sickly-looking crop. The symptoms might be mistaken for those of root-rot, whereas the real cause is too short a daylength accompanied by a temperature higher than out of doors.

At Aalsmeer I had to deal with difficulties in the cultivation of mother-plants of *winter-flowering Begonias*, particularly the species which bear large flowers. These originate from crosses of tuberous begonia with stem begonia. They offer the advantage of initiating many flowers in the short autumn days, but they have the disadvantage that their partly tuberous nature gives them a propensity to die off in winter without forming proper tubers.

For a long time this gave the Aalsmeer-growers a lot of trouble. It proved very difficult to keep the mother-plants alive during winter; many of them died and the remaining ones lacked very much in appearance; it was summer before they had regained some vigour, so that the first cutting could barely be obtained in June, which was much too late. That is why cultivation first became really possible when it was noticed that the plants grew better if illuminated during the night hours with ordinary incandescent lamps. Afterwards I was able to prove that here again the length of day was the decisive factor. The short days of the autumn have a twofold influence. In September, for example, with an astronomical day-length of 12 hours, the plants produce leafy shoots forming a lot of flowers. This is still quite normal. Later in winter – for example with a day of 8 hours – the winter state of rest begins to predominate to such an extent that one might suppose the plants to have become the victims of a disease, the leaves turning yellow and falling off. The only development achieved is that of flowers; leaf-shoots are lacking, and growth comes finally to a complete standstill, the stump of the clipped stalk sometimes ending with a tuber. Occasionally some small tuberous thickenings of the stalk are also found below soil level. There are no more young leaves coming on; the old foliage has become dark green in consequence of the standstill of growth, with the leaf-blades often bulging. All this could be entirely prevented by means of incandescent lamp-light of an extremely low intensity, which can be obtained by installing an average of only 8 Watts per square meter. The primary cause of the diseased condition of the plants has thus nothing to do with an affection by parasites. It seems likely that the plants are suffering from a deficiency of growth-promoting substances, or of what produces the same effect: a surplus of growth-inhibiting substance.

Thus we have landed on the field of hormone-pathology of which we have but yet a vague conception. Many symptoms of diseases, also in other fields of phytopathology, often bring to mind hormonal actions. I am mentioning only the outward similarity of symptoms of some virusdiseases with those occurring when growth hormones are being used as weedkillers.

Returning to the subject of light: already at the beginning of my research work at Wageningen, I noticed that a fairly strong irradiation with incandescent lamps prevented the damping-off of seedlings of *Sinapis chinensis* L. affected by *Rhizoctonia*. The effect was less marked under Neonlight. At the time, I supposed that the desiccating action of the incandescent lamp irradiation (infrared) contributed to the effect by drying up the surface of the soil, thus robbing the fungi of their chance of infection. This seemed to explain also why

Neonlight was less effective, for it contains considerably less infrared rays than the incandescent lamplight. On the other hand we must admit that the light of incandescent lamps was not so suitable for the purpose, as it caused an excessive lengthening of the stems of the seedlings. A long, spindly seedling is generally considered to be more susceptible to damping-off than a sturdy thick-set one. So the theory did not quite fit here. I then thought that the seedlings under light might sooner outgrow the sensitive stage, as plants develop more quickly under artificial light when care is taken to give them sufficient to ensure that carbon dioxide assimilation becomes important. In this respect, however, the same success should be obtained when using Neonlight or other discharge lamps.

Meanwhile, in recent years, I have been able to establish at Utrecht, an effect of artificial light on damping-off in seedlings and the like, which is in no way connected with drying or with carbohydrate formation, but which is already noticeable with very weak irradiation by incandescent lamps. A long-day effect must therefore be presumed here also. As the cost of the very weak irradiation practised in nurseries producing begonia mother-plants is very low, many florists began trying incandescent lamps near other plants. This was not because of any theoretical considerations, but because growers tend to try anything they think may give a chance of improvement. It was soon found that treated seed begonias appeared less susceptible to damping off.

Many plant-species however, do not react well to night-irradiation by means of incandescent lamps. Thus the stems of *Gloxinia* seedlings became too elongated, which proved a disadvantage all through their cultivation, as the mature plants became rickety. It was noticed, however, that with irradiated plants damping-off occurred less often in the first phases of development.

Because of the high price of coal, growers wish to burn as little fuel as possible, but *Gloxinia* seedlings require sufficient heat. In the winter of 1950 '51 we cultivated *Gloxinia* of the species „Kaiser Wilhelm” at a greenhouse temperature which was intentionally kept too low. It was found that a very weak illumination by means of incandescent lamps avoided the stagnation of growth caused by too low a temperature and prevented damping-off. The only thing we did was to lengthen the day artificially, thus promoting growth of the stalks and expansion of the leaves. If this could be explained e.g. by an increase in the production of the growth promoting substance, the quantity of this to be found in the plant could determine the possibility of infection by soilfungi. The turgescence of the tissue-cells may play a part in it.

The examples given show how strongly day-length may effect the state of health of some photoperiodically sensitive plants.

LITERATURE

- MUYZENBERG, E. W. B. VAN DEN – 1942. De invloed van licht en temperatuur op de periodieke ontwikkeling van de aardbei (*Fragaria grandiflora* Ehrh.). Dissertatie Landbouwhogeschool, Wageningen.
- ROODENBURG, J. W. M. – 1939. Het vervroegen van aardbeien met kunstlicht. Landbouwkundig Tijdschrift, 51, no 632: 896-932.
- ROODENBURG, J. W. M. – 1943. Jaarverslagen Proeftuin Aalsmeer 1941/43.
- ROODENBURG, J. W. M. & B. A. TIDDENS – 1938. The rôle of phytohormones in photoperiodism of strawberries. Chron. Botanica IV: 18-20

BRUINE VLEKKEN OP CHAMPIGNONS TEN GEVOLGE VAN AANTASTING DOOR PSEUDOMONAS TOLAASI PAINE

*With a summary: A brown blotch disease of cultivated mushrooms caused by
Pseudomonas Tolaasi PAINE*

DOOR

H. C. BELS-KONING en K. DE JONG-OLTHOF

(Uit het Laboratorium voor Champignonenteelt-onderzoek te Houthem L.)

INLEIDING

Bruine vlekken op champignons zijn een bekend en algemeen verschijnsel in allerlei kwekerijen; maar vooral daar, waar een hoge luchtvochtigheid heerst en weinig ventilatie is. Van oudsher worden de vlekken aan „vocht” toegeschreven.

Er kunnen allerlei oorzaken zijn voor bruine vlekken op champignons. Iedere beschadiging van de cellen doet reeds oxidasen naar buiten treden, die aan de lucht een roodbruine verkleuring van het celvocht te weeg brengen.

BESCHRIJVING VAN HET ZIEKTEBEELD

De hier bedoelde bacterievlekken hebben een diep chocolade- of kastanjebruine kleur en onregelmatige vorm. Kleine vlekjes kunnen samenvloeien tot grotere; soms is de gehele hoed bruin, alsof er verf over gemorst en langs de rand afgedropen is. Vaak bevinden de vlekken zich op de plaats, waar twee naburige champignons elkaar raken. De steel is zelden aangetast. De vlekken maken de indruk veroorzaakt te zijn door vochtspatten of overdruipe water (fig. 1). Goed ventileren en iets meer verwarmen na het sproeien der bedden, waardoor de champignons weer snel aandrogen kan het aantal gevlekte exemplaren in een kwekerij belangrijk doen verminderen, maar is niet altijd afdoende. Op doorsnede blijkt de aantasting zeer oppervlakkig en hoogstens 1 mm diep (fig. 2).

Gevlekte champignons zijn goed eetbaar. Wanneer zij geschild worden, kunnen zij zelfs als volkomen blank gerecht op tafel komen. Voor de markt zien zij er onogelijk uit en voor de conservenfabrieken vereist het schillen te veel arbeid.

De bacterie-vlekken kunnen verward worden met bepaalde stadia van een *Verticillium*-aantasting en misschien ook wel met vlekjes veroorzaakt door een schimmel van het *Sporotrichum*-type.¹⁾ De schimmelvlekken zijn iets meer grijsachtig-bruin. Zij vertonen vaak een fijn waas van schimmelpuis met conidiën. Indien dit puus niet direct aanwezig is, verschijnt het binnen 24 uur wanneer de champignon in een vochtige kamer (gesloten cultuurdoos met nat watje) gelegd wordt. Bacterie-vlekken blijven in een vochtige kamer onveranderd of zij gaan glimmen. Microscopisch onderzoek brengt de bacterie-massa meestal zonder moeite aan het licht. Men moet bedacht zijn op een gecombineerde schimmel- en bacterie-aantasting.

BESCHRIJVING IN DE LITERATUUR

Eenzelfde ziektebeeld wordt door TOLAAS in 1915 voor de V.S., en door PAINE in 1918 voor Engeland, beschreven. Beiden noemen echter nog een gele ver-

¹⁾ Deze ziekte doet zich voor in de vorm van een aantal speldeknoop grote vlekjes op de hoed, die niet samen vloeien. Zij is nog vrijwel niet onderzocht. BULLOCK noemt de pathogene zwam voorlopig: *Acremonium* spec. Wij isoleerden een schimmel uit dergelijke vlekjes, die door het Centraal Bureau voor Schimmelcultures te Baarn gedetermineerd werd als *Sporotrichum roseolum* OUD. et BEIJERINCK. Misschien hebben wij te doen met hetzelfde organisme.

kleuring, die hetzij als aanvangs-stadium van de ziekte optreedt, of in het vruchtvlees onder een sterk aangetaste „opperhuid” voorkomt. Ook zagen zij de vlekken dieper (tot 3 à 4 mm) in het vlees doordringen. Wij zagen nimmer een gele verkleuring en nooit vlekken, die dieper dan 1 mm gingen.

TOLAAS isoleerde een bacterie, die na inoculatie het oorspronkelijke ziektebeeld gaf. PAINE vond een bacterie, die met de beknopte beschrijving van TOLAAS overeenkwam. Hij gaf een uitvoeriger beschrijving en de naam: *Pseudomonas Tolaasi*.

ONDERZOEK

Bij ons werk voor de champignon-teelt komen wij herhaaldelijk bacterievlekken tegen. Het materiaal voor dit onderzoek werd verzameld in een kwekerij in de onderaardse gangen van de St Pietersberg bij Maastricht. De geïsoleerde bacteriën komen overeen met de beschrijving van PAINE.

Wij isoleerden en kweekten op champignon-agar, als volgt bereid: Champignonextract; 300 gr verse champignons koken en 3 uur trekken in 1 L water; in het extract 2 gr agar oplossen, weer aanvullen tot 1 L; steriliseren: $\frac{1}{2}$ uur met $\frac{1}{2}$ atm. overdruk. Pepton en vleesbouillon voldeden evengoed als champignon-agar. Op moutagar had in het geheel geen groei plaats.

Inoculaties werden verricht met bacterie-suspensies gemaakt van champignonagar-culturen, die 24 uur oud waren. Soms werd de hoed van te voren met een steriele naald gekrast, soms streken wij de suspensie alleen met een penseel voorzichtig over de onbeschadigde hoed. Beide methodes gaven hetzelfde resultaat. De champignons groeiden in daartoe ingerichte laboratorium-kamers, die verwarmd werden met langs de wanden gespannen elektrische kabels. Geprepareerde natte jute boven de kabels hield de atmosfeer vochtig. Door het openen van raam en/of deur kwam op primitieve wijze de ventilatie tot stand. Voor het verkrijgen van goede infectie bleek het niet nodig een stolp over de geïnculeerde champignons te plaatsen.

Wij werkten met de volgende broedmerken en nummers: Witte champignons: SARAZIN (Parijs, Brussel), no 12, 31, 32, (no 32 geeft soms een enkele vlucht van crème exemplaren); BIE en BERNTSEN (Kopenhagen); GILLON (Brussel), no 31.

Bruine champignons: PINKERTON (Glasgow); BIE en BERNTSEN.

RESULTATEN

De inoculaties slaagden altijd *mits* de bacterie-suspensie gemaakt werd in champignon-extract, vleesbouillon of peptonwater. Reeds na 10 uren was de eerste verkleuring zichtbaar; na 24 uur was de vlek kastanjebruin (fig. 3). Bacteriën, die langer dan 5-6 maanden in reïncultuur waren, hadden hun virulentie echter verloren.

Verschil in gevoeligheid bij de „rassen” hebben wij niet geconstateerd, maar besteedden hier ook geen bijzondere aandacht aan. Uit de praktijk is bekend, dat bruine champignons minder bacterievlekken vertonen dan witte. Dit houdt misschien verband met het feit, dat bruine champignons na het gieten spoediger „droog” zijn dan witte. Wanneer de bacteriën in leidingwater of gedestilleerd water gesuspenderd werden, volgde geen infectie.

Ook PAINE verrichtte zijn inoculaties met bacterie-suspensies in champignonbouillon, terwijl TOLAAS een gehele bacterie-kolonie met een oogje van een agar bodem lichtte en over een champignon streek. Deze methodes van inoculatie verschaffen niet voldoende inzicht in de wijze van spontane infectie in de kwekerij.

Het infectieus materiaal zal hier niet zo geconcentreerd aanwezig zijn als in TOLAAS' proeven; champignonbouillon komt er niet voor. Om hieromtrent een beter inzicht te verkrijgen beproefden wij een aantal suspensie-middelen.

Wij maakten warme en koude extracten van vier der door ons gebruikte soorten dekaarde. 1e dekaarde werd met water gekookt en bleef 24 uur bij kamertemperatuur staan, vervolgens werd het afgietsel nog eens opgekookt. 2e dekaarde werd met koud water 24 uur bij kamertemperatuur bewaard.

Suspensies van de bacterie in dergelijke extracten van verse dekaarde gaven geen vlekken op de champignons. Alleen extracten van oude dekaarde, die sterk doorgroeid was met champignonmycelium gaven een gering positief resultaat.

Eveneens een zwak positief resultaat, bestaande uit lichtbruine vlekken, die slechts heel langzaam groter werden, bereikten wij met warme en koude extracten van gefermenteerde mest, waarin nog geen champignonmycelium gegroeid had.

De duidelijke diepbruine vlekken, die met suspensies in champignon-bouillon, etc. ontstaan, konden wij tenslotte ook verkrijgen met een suspensie in een extract, dat wij ter onderscheiding „champignon-water” zullen noemen. Het werd verkregen door blokjes champignon-„weefsel” aseptisch uit hoed of steel te snijden en een nacht in steriel water bij kamertemperatuur te laten staan, (1 cc weefsel in 10 cc water). In plaats van blokjes „weefsel” namen wij ook champignon-mycelium van reinculturen op moutagar.

Uit de experimenteel verkregen vlekken kon *Pseudomonas Tolaasi* terug geïsoleerd worden. Met alle suspensie-middelen zonder bacteriën bleven de champignons volkomen wit. Deze resultaten leiden tot de conclusie, dat *Pseudomonas Tolaasi* extractief stoffen uit vlees of champignon nodig heeft om infectie teweeg te brengen. Blijkbaar zijn deze stoffen thermostabiel.

DISCUSSIE

Hierbij sluiten cytologische waarnemingen van SARAZIN (1951) aan: Onder de „opperhuid” van normale gezonde vruchtlichamen bevindt zich een zone van cellen met talrijke kleine vacuolen. SARAZIN meent, dat deze toestand correleert met een voortdurende krachtige transpiratie. In kwekerijen, waar de champignons neiging tot vlekkerigheid vertonen zijn de vruchtlichamen vaak geruime tijd vochtig. In de cellen van de bedoelde zone vindt men dan één grote vacuole. Er heerst blijkbaar een belangrijke osmotische druk, want de cellen zijn opgezwollen en barsten soms. Deze beschadiging alleen, zou al voldoende zijn om vlekken te veroorzaken, daar het celvocht nu met de lucht in aanraking komt. Deze vlekken zijn aanvankelijk roodachtig en worden pas later bruin, waarbij de kleurstof zich aan de wanden der dode cellen van de opperhuid zou hechten.

In onze kweekruimte was steeds wel enige gelegenheid tot transpiratie, zodat wij SARAZIN's waarnemingen niet konden bevestigen. Zelfs onder de stolpen kregen de champignons van onze „blanco” proeven echter nooit vlekken. De gekraste contrôle-exemplaren verkleurden uitsluitend in de kras. Eerst licht roodachtig dan heel lichtbruin. Diep chocolade bruine vlekken, die zich uitbreiden, hebben wij zonder *Pseudomonas Tolaasi* nooit gekregen.

De predisponerende invloed van waterverzadiging, zoals JOHNSON (1947) die voor hogere planten vaststelde zal hier zeker een rol spelen. Het is nl. de vraag of de hoeveelheid „champignon-water”, die de gebarsten cellen geven voldoende is, voor *Pseudomonas Tolaasi*, om infectie te weeg te brengen. De, door krassen beschadigde, cellen leveren blijkbaar niet voldoende op.

Uit enkele proeven met bestrijdingsmiddelen kregen wij de indruk, dat *Pseudomonas Tolaasi* moeilijk te doden is. Wij probeerden: bleekwater, koper-acetaat, Bordeauxse pap en zink-thiocarbamaten (AAzira, AAphytora).

Een bacterie-suspensie in champignon-water werd met deze middelen gemengd en zo op de champignons gestreken. In alle gevallen traden vlekken op. De suspensies werden 2 dagen bewaard. Zelfs in de vrij hoge concentraties, waarbij de blanco's beschadiging van de champignons gaven, bleek *Pseud. Tolaasi* na 2 dagen nog te leven. Alleen bacterie-suspensies, waar 0,1 % Cu acetaat in voorkwam, vertoonden na 2 dagen, bij uitstrijken op champignon-agar, geen groei meer.

CONCLUSIES VOOR DE PRAKTIJK

Uit de resultaten met „champignon-water” blijkt hoe belangrijk het verwijderen van ouden stompen en mycelium uit de dekaarde is („trashing”). De oude resten leveren bij het sproeien der bedden „champignon-water”, dat op de hoeden kan spatten, waardoor de bacterie gunstige omstandigheden voor infectie vindt. Een direct bestrijdingsmiddel hebben wij nog niet kunnen vinden. De kwekers sproeien vaak met succes bleekwater (1–2 %).

Naast de proeven met *Pseudomonas Tolaasi* maakten wij enkele inoculaties met bacteriën, geïsoleerd uit druppeltjes bacterie-slijm, afkomstig van champignons, die „la goutte” vertoonden (beschreven door COSTANTIN 1892, MATRUCHOT 1909).

Het ziektebeeld van „la goutte” was reproduceerbaar bij afgesneden champignons in een vochtige kamer. De bacterie is echter stellig niet identiek met *Pseudomonas Tolaasi*.

SUMMARY

A brown blotch disease of cultivated mushrooms, caused by *Pseudomonas Tolaasi* PAINE, has been studied. To get infection under artificial conditions the bacteria had to be grown on media containing extracts from meat or mushrooms. The mushroom extracts were obtained from pilei and pure culture mycelium, with hot as well as with cold water. Under natural conditions old mycelium in the casing soil and stumps of mushrooms left on the beds after picking may provide for the active substances, which probably are extracted and splashed by the water used in spraying the beds. Trashing the beds will cut down the rate of blotched mushrooms. *Pseudomonas Tolaasi* proved to be resistant to the bactericides tested.

LITERATUUR

- BULLOCH, MC G. – 1950. A new Mushroom Disease. Preliminary Notes etc. M.G.A. Bulletin 18: 24.
 COSTANTIN, J. – 1892. La Goutte, Maladie du Champignon de Couche. C.R. Soc. Biol. Paris, Séance 5 Mars.
 JOHNSON, J. – 1947. Water-Congestion in Plants in Relation to Disease. Res. Bull. 160, Wisc. Agr. Exp. Sta.
 MATRUCHOT, L. 1909. Les Maladies du Champignon de Couche. La Goutte. La Culture des Champignons comestibles, Paris 24.
 PAINE, S. G. – 1918. Studies in Bacteriosis II. A brown Blotch Disease of cultivated Mushrooms. Ann. Appl. Biol. V.: 206–219.
 SARAZIN, A. – 1951. Le Champignon de Couche. Cytologie. Bull. Féd. Nat. Cultiv. Champignons, Paris 11.
 TOLAAS, A. G. – 1915. A bacterial Disease of cultivated Mushrooms. Phytop. 5: 51–54.

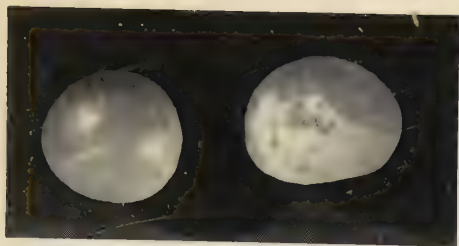


Fig. 1. Spontane infectie van *Ps. Tolaasi* PAINE op wit ras



Fig. 2. Vlekken van *Ps. Tolaasi* dringen niet diep in het hoedvlees door

Inoc. 13/3 '50; Foto 15/3 '50

Boven: doorsnee wit ras

Onder: doorsnee bruin ras



Fig. 3. Inoculatie met *Ps. Tolaasi* PAINE gesuspendeerd in champignonextract 14/3 '50, 16 u.; Foto 15/3, 10 u.

Van l. naar r.: onbehandeld

gekrast met steriele naald

gekrast, vervolgens bestreken met *Ps. Tolaasi*

alleen bestreken met *Ps. Tolaasi*

Boven: wit ras. Onder: bruin ras



FIG. 1

Bramentak met samenvloeiende vlekken van *Septocyta ramealis*. Bij → talrijke pycniden.

*Stem of blackberry with coalescent spots of *Septocyta ramealis*. At → numerous pycnidia.*

FIG. 2

Jonge spruit, nog bevestigd aan het uiteinde van de oude tak, die vlekken van *Septocyta* vertoont.

*Young shoot, still connected with the terminal part of the old stem, which shows spots of *Septocyta*.*

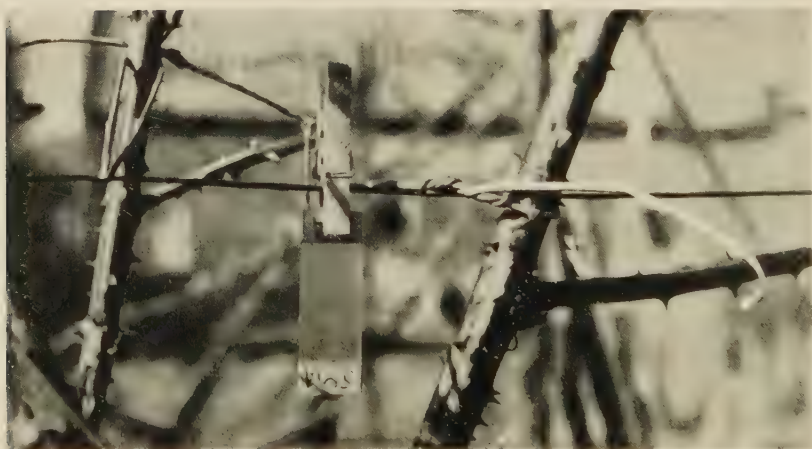


Fig. 3. Vangglaasje, laag opgehangen tussen de nog kale planten (10 April '52).

Slide hanging between the plants (10-4-'52).

TAKSTERFTE BIJ BRAMEN

veroorzaakt door *Septocyta ramealis* (Rob.) Pet.

With a summary: Die-back of blackberry caused by Septocyta ramealis (Rob.) Pet.

DOOR

A. J. P. OORT

Lab. voor Phytopathologie van de Landbouwhogeschool, Wageningen

In het najaar van 1950 werd door Ir J. D. GERRITSEN, rijkstuinbouwconsulent te Geldermalsen onze aandacht gevestigd op een ernstige ziekte in de bramencultuur in de omgeving van Zaltbommel. De aangetaste struiken vertoonden in hevige mate taksterfte als gevolg waarvan de opbrengst sterk terugliep. De opbrengstvermindering in de zwaar zieke tuinen werd in 1951 op minstens 50% geschat, terwijl de schade in het gehele gebied rondom Zaltbommel 5-10% bedroeg. Met de medewerking van Ir J. M. JACOBS, toentertijd student en de studenten J. ROMBACH en J. DEKKER werd een begin gemaakt met de bestudering van deze ziekte. Mede namens hen volgt hier een voorlopige mededeling over het tot dusverre verrichte onderzoek.

De in het najaar 1950 verzamelde aangetaste takken vertoonden een zo wisselend beeld, dat het uitgesloten was de ziekteoorzaak vast te stellen. Talrijke schimmels werden geïsoleerd, maar door het ontbreken van plantenmateriaal voor infectieproeven kon niet aangetoond worden dat deze schimmels parasitair waren.

In 1952 werd het probleem anders aangepakt. Om het voortschrijden van de aantasting goed te kunnen volgen werden vanaf het begin regelmatig waarnemingen verricht en materiaal verzameld in een tuin, waarin in 1951 hevige taksterfte was waargenomen. Deze tuin was gelegen in Kerk-Driel en het eigendom van de Heer VAN OSCH. Bij het eerste bezoek op 19 Maart waren de takken zowel dicht bij de grond als hoger op bezaaid met ovale roodbruine-donkerpaarsbruine vlekken van 1-2 cm lengte. In deze vlekken werden in rijen staande zwarte puntjes waargenomen (fig. 1). Het bleek bij verder onderzoek, dat dit pycniden waren met reeds rijpe sporen van een *Septoria*-achtige zwam. De tuinder verklaarde dat deze vlekken pas sinds korte tijd te zien waren en dat hij ze in najaar en winter niet had opgemerkt. Het vermoeden, dat deze schimmel identiek zou zijn met *Septocyta* (*Rhabdospora*) *ramealis* (Rob.) Pet., werd later door Dr A. VON ARX bevestigd. Deze parasiet was reeds eerder in Europa waargenomen, maar op de schadelijkheid is pas goed de aandacht gevestigd door KOELLREUTER ¹⁾, die in Zwitserland een uitgebreid onderzoek heeft ingesteld naar parasiet en ziekte. De ziekte wordt in Nederland bruinestengelvlekkenziekte genoemd.

Bij de bezoeken in April en later bleek, dat in de loop van voorjaar en zomer geen duidelijke veranderingen in het ziektebeeld optraden. De vlekken breidden zich niet of nauwelijks uit, terwijl het aantal vlekken op de overjarige takken gelijk bleef, van een duidelijke toename bleek althans niets. Half April begonnen enkele uiteinden van takken instervingen te vertonen, maar dit proces zette zich niet voort, zodat de schade, hierdoor tweegebracht, te verwaarlozen was. De hevige taksterfte in 1951 was volgens de kweker opgetreden na een hittegolf in Mei. In 1952 kwamen hittegolven niet voor, zodat hiermee wel-

¹⁾ Morphologie und Biologie von *Rhabdospora ramealis*, *Phytopath. Z.* 1951, 17: 129-160.

licht het weinig schadelijk optreden van *Septocyta* in dit jaar kan worden verklaard. De jonge loten, die zich van Mei af ontwikkelden, werden gedurende de gehele zomer zorgvuldig gecontroleerd op nieuwe infecties, op 10 September konden nog geen vlekken waargenomen worden ¹⁾.

Om tot een efficiënte bestrijding te komen en de tijdstippen van de toepassing van de bestrijdingsmiddelen vast te stellen was het gewenst gegevens te verzamelen over het vrijkomen van de pycnidiosporen. Zoals bij alle pycnidien-vormende schimmels komen de sporen alleen na bevochtiging (regen) te voorschijn en worden door spattende en vallende regendroppels verspreid. Om de sporen op te vangen werden naar het voorbeeld van KOELLREUTER in de struiken voorwerpglasjes opgehangen, die met vaseline waren bestreken (fig. 3). Op elke plaats werd een stel van twee van dergelijke glasjes, die met de niet bestreken zijde tegen elkaar geplaatst waren, opgehangen. Op twee ver uiteenliggende plaatsen in de tuin werd een dergelijk stel glasjes bevestigd. Om de 3-9 dagen werden de glasjes door nieuwe vervangen. Van 21 Mei af werd in de onmiddellijke nabijheid van één ophangplaats een fles met een trechter opgesteld, om ook op deze wijze sporen op te vangen. De fles werd eveneens om de 3-9 dagen verwisseld. Het gedurende de regenval opgevangen water werd in een smalle maatcilinder uitgegoten, op de bodem van de cilinder werd een dekglasje geplaatst en met behulp van een hevel werd het water nu zeer langzaam weggeheveld. Op het dekglasje werden op deze wijze de sporen, die veelal sterk verontreinigd waren met andere tijdens de regen afgespoelde deeltjes, opgevangen.

Het plaatsen en verwisselen van de opvangglasjes en van de vangflessen geschiedde door de Heren GROENEVELD en BLOM, assistenten bij de Tuinbouwvoorlichtingsdienst. Voor de goede zorgen zeg ik hun hierbij hartelijk dank.

Bij de met vaseline bestreken objectglazen werd door een eenvoudige telling van 4×10 vakjes van $0,5 \text{ mm}^2$ dwars over het objectglas de sporendichtheid vastgesteld en per cm^2 omgerekend. Bij de dekglasjes werd gezien de grote ophoping als volgt te werk gegaan. De dekglasjes werden met een bepaalde hoeveelheid water bedekt en na een nacht weken werd het water met de sporen er af gestreken, waarna de dichtheid van de suspensie door telling van de sporen in een bacterie-telkamer werd bepaald.

Uit de gegevens van de sporenvangsten, zowel met de vangglasjes als met de trechters blijkt:

1. dat van begin April (het begin van de vangproeven) tot eind Augustus, dus gedurende vijf maanden, sporen vrij zijn gekomen. Uit waarnemingen aan medegenomen materiaal blijkt, dat op 19 Maart reeds rijpe sporen aanwezig waren.
2. dat het aantal opgevangen sporen van April tot Juni sterk toeneemt om daarna eind Augustus weer tot nul te dalen (fig. 4).
3. dat bij droog weer geen sporen worden gevangen.
4. dat in de afzonderlijke vangsten grote variaties voorkomen. Deze variaties worden vermoedelijk voor een groot deel veroorzaakt door windrichting en windkracht, sterkte van de regenval en bladbedekking.

Infecties kunnen dus hebben plaats gevonden van April tot en met Augustus. Aangezien de nieuwe loten zich eerst in Mei beginnen te ontwikkelen kunnen

¹⁾ Op 23 October werden op talrijke planten vooral dicht bij de grond de typische rood-bruine vlekken waargenomen. Ook pas beginnende, nauwelijks zichtbare infecties werden geconstateerd.

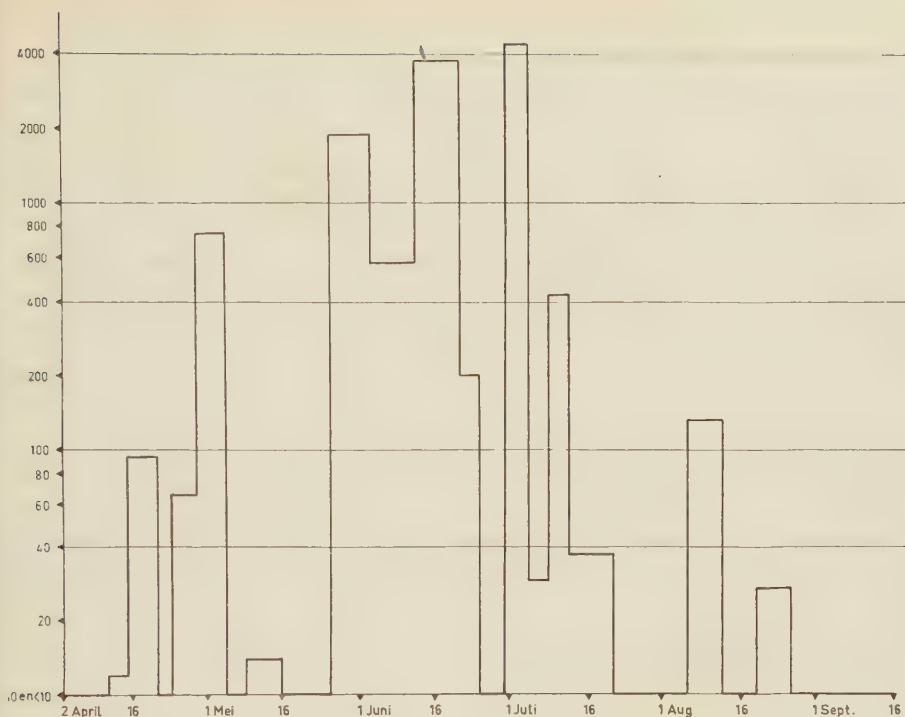


FIG. 4. Aantal sporen per cm^2 per dag van *Septocytia* gevangen op voorwerpglasjes van April tot en met September.

Ordinaat: aantal sporen volgens logarithmische schaal.

Number of Septocytia-spores per cm^2 and per day caught on slides from April up to September inclusive.

Ordinate: Number of spores on a logarithmic scale.

de eerste infecties op de jonge takken eerst na die tijd hebben plaats gehad. Op 10 September konden evenwel nog geen vlekken worden waargenomen. Volgens KOELLREUTER is de incubatietijd zeer lang en kan verscheidene maanden duren. Zo kan uit het nog niet aanwezig zijn van met het blote oog zichtbare vlekken op 10 September geen conclusie getrokken worden over het tijdstip van infectie, dus evenmin over het meest gewenste tijdstip van bespuiting van het gewas.

Uit een door de Heer DEKKER genomen proef blijkt, dat lage temperatuur een belangrijke rol speelt bij het optreden van vlekken. Van in de kas geïnoculeerde planten werd er één gedurende 6 weken in een verlichte koelcel van het Instituut voor Bewaring en Verwerking van Tuinbouwproducten bij 4°C geplaatst. Nadat de plant wederom in de kas was terug gebracht, ontstonden na verloop van 1 week de eerste roodbruine ovale vlekken, waarin zich ook spoedig pycniden met rijpe sporen ontwikkelden. Op de planten, die voortdurend in de verwarmde kas hadden gestaan, waren geen symptomen waar te nemen. Deze proef bevestigt de waarnemingen uit de praktijk, over het plotseling optreden van de vlekken in het vroege voorjaar. Ook KOELLREUTER vermeldt, dat in Maart plotseling het aantal vlekken sterk toeneemt; anderzijds werden door hem ook reeds vlekken – zij het in gering en langzaam stijgend aantal – gevonden vanaf Augustus van het voorafgaande jaar.

Behalve de door *Septocyta* veroorzaakte ziekte werd in een andere tuin ook taksterfte waargenomen, die vermoedelijk veroorzaakt was door *Didymella applanata*. De aantasting was hevig, zodat de oogst aanmerkelijk onder de normale bleef. De vraag welke van de beide schimmels de hoofdrol speelt bij taksterfte van de braam moet voorlopig onbeantwoord blijven.

De bestrijding van het taksterven, veroorzaakt door *Septocyta*, kan gezocht worden in een regelmatige bespuiting van de jonge loten met een kopermiddel of met carbamaten tot dicht voor de pluk (eind Juli) ter bescherming van het gewas van het volgend jaar. KOELLREUTER kreeg in Zwitserland gunstige resultaten met een tweemaalige bespuiting (namelijk eind April en half Juni) met koperoxyduul of Bordeauxse pap. De in Nederland in 1951 door de Plantenziektenkundige Dienst uitgevoerde bespuitingen gaven geen duidelijke resultaten; van die van 1952 moet in 1953 het resultaat nog worden afgewacht.

Bovendien zal men bij het aanleggen van een nieuwe tuin de jonge planten zonder het stengeleind van de oude plant moeten uitzetten. In vele gevallen werden op de oude stengelstukken aan welks uiteinde de jonge plant zich ontwikkelt, talrijke vlekken van *Septocyta* aangetroffen (fig. 2). De jonge planten diene men ook zo vroeg mogelijk (vóór of in April) uit de oude tuin weg te halen om infectie, uitgaande van de oude planten, waar zij tussen staan, te vermijden.

Het is duidelijk, dat de hier gegeven aanwijzingen voor de bestrijding slechts een richtlijn geven. Een definitief bestrijdingsschema zal eerst later kunnen worden gegeven.

SUMMARY

In some years in the Bommelerwaard province of Gelderland, die-back of blackberry can do considerable damage. One of the causes is the fungus *Septocyta* (*Rhabdospora*) *ramealis* (Rob.) Pet. In a garden where blackberries have been under observation for the last two years, the stems were covered on 19 March 1952 with dark purplish-brown spots, in which numerous pycnidia were found (fig. 1). However, die-back, which was very severe in this garden in 1951, occurred only to a slight extent in 1952. In spore-trapping experiments (fig. 3) pycnosporos were caught from the beginning of April until the end of August, with a marked maximum in June (fig. 4). In dry or nearly dry periods no spores were trapped. During summer and until the last observation on 10 September no new infections on the young vegetative branches could be found¹⁾. From inoculation experiments it became clear that the appearance of the spots is promoted by a cold treatment. Inoculated plants, kept for 6 weeks at 4°C in an illuminated cool-room, showed symptoms a week after their removal, whereas plants inoculated at the same time and kept in a greenhouse at room temperature showed no symptoms.

Control of the disease must be directed mainly towards protection of the young vegetative parts by spraying. Also, since in propagation young shoots are used which are still connected with the terminal part of the old branch on which they developed, this terminal part should be removed in early spring, as it is often covered with spots of *Septocyta* (fig. 2). This should help to prevent infection of the young plants, which are probably the means by which the disease is carried to new gardens.

¹⁾ On 23 October the first spots were observed especially on the lower parts of the shoots.

PTEROCHLORUS ROSAE, AN UNCOMMON APHID ON ROSES

BY W. ROEPKE

75

In the autumn of 1951 my old friend Mr L. VAN GIERBERGEN drew my attention to what he called a „black aphid” occurring on a climbing rose in his garden at Wageningen. The species proved to be *Pterochlorus rosae* CHOL., the only Lachnine having *Rosa* as a food plant. The literature about this insect is scanty and its bionomics are not yet fully known, so that a short account of it may be given here.

1899. The Russian entomologist CHOLODKOVSKY (Zool. Anz. 22: 471) was the first to describe this aphid from rather numerous specimens he had found some years previously in Esthonia. He had observed viviparous females only, which he placed in the genus *Lachnus* BURM.

1912. VAN DER GOOT (Tijds. Ent. 55: 89) independently described the oviparous female of the same insect, as *Lachnus rosarum* n. sp., found in October 1907 on old branches of roses at Wageningen. He described the manner of egg laying and figured the antenna of the oviparous female. In the same year (Mitt. Naturh. Mus. Hamburg 29: 279) he recorded the occurrence of the insect in Germany. In his well known handbook (Beitr. Kennt. Holl. Blattl., 1915: 408) he referred the species correctly to *L. rosae* CHOL., and without adding new details he said that he found it only above the ground.

1917. The species was recorded from North America on wild rose near Orono by Miss E. PATCH (J. Ec. Ent. 10: 418). Apterous and alate females were observed; they were described as „glistening bronze” and thickly hairy; they were accompanied by ants.

1920. GAUMONT (Bull. Soc. Ent. de France: 26) discovered the aphid in the Haute Alsace, France, and in several localities in Central France, where it was living on *Rosa canina*. This author described the alate female and both sexuales, indicating the coloration as green or reddish. Furthermore, he established the new genus *Maculilachnus* for this species.

1922. OESTLUND (19th Rep. State Entomol.: 120) mentioned the occurrence of the insect in Minnesota with the few words: “Founds on the stalks of the rose, usually close to the ground or even partly under the ground”. No further particulars were given.

1923. WILSON (Connect. State Geol. & Nat. Hist. Survey, Bull. 34: 258) recorded the aphid as occurring from Maine to Colorado, on the stems of native roses. Both apterae and alatae were stated to have numerous, large, quadrangulate sensoria on the antennae. Wilson placed the insect in the genus *Nippolachnus* MATS.

1925. LAING (Entom. 58: 19) recorded the aphid for the first time from England: it was found on the roots of a rose bush at Weybridge, Surrey. He considered *Maculilachnus* GAUM. invalid and placed the insect in *Pterochlorus* ROND.

1929. KNOWLTON (Pan-Pac. Entom. 6: 33) wrote „Very abundant upon *Rosa fendleri* on the Utah Agricultural College campus”, in May-June. In July the colonies became scarce and soon disappeared entirely. They were attended by large numbers of the common ant, *Formica rufa*. He described and figured some morphological structures.

1929. THEOBALD (Plant Lice or Aphids of Gr. Brit. 3: 114) repeated the statements of LAING (1925) and expressed the opinion that the insect was probably an introduced species.

1932. BÖRNER (in SORAUER, Handb. Pflanzenkr. 5: 572) stated that *Lachnus rosae* occurs in Europe and North America on wild and cultivated roses, mostly at the base of the stems or on the higher roots, rarely on the branches. It was said to be numerous on roses on stony slopes in Central Germany.

So much for the literature we have been able to consult. It follows from this that *Pterochlorus rosae* has a wide geographical range, occurring in North America as well as in Europe. In Europe, it has been recorded from Esthonia, Germany, Holland, France and England, but it will certainly be found also in other countries. There is no reason, we think, to assume that its occurrence in England may be due to introduction.

We observed the insect in October and November 1951 at Wageningen. There were several localized colonies on rather thick, but still green rose twigs, at about a mans height. No colonies were seen near the ground or below it. The insects were eagerly attended by the black ant *Lasius fuliginosus* LATR. which had its nest a considerable distance away. The colonies consisted, in the beginning of apterous females only; soon the oviparae and much smaller, apterous males appeared. The first eggs were observed on 20 October, near the bases of the thorns. Egg laying took place during the last ten days of October and the beginning of November, and several egg batches, each consisting of numerous eggs, were produced. The eggs were rather large and greenish or yellowish when freshly laid, but they became black within a few days. In the second and third ten-day periods of November the colonies, under the influence of bad weather, decreased rapidly and finally disappeared.

Material for microscopic examination was collected in the beginning and towards the end of the observation period. When alive the aphids had a dull, dark brown or bronze coloration. Macerated specimens were colourless, with the exception of the head, antennae, legs, cornicles and cauda, which remained dark brown. The body was densely covered with short hairs. On each side of the abdomen there were two rows of small, dorsal sclerites, already indicated by GAUMONT in his figure, l.c. Furthermore, the wingless females showed on the first abdominal segments a median double row of very small, elongated sclerites. The short hairs seemed to be implanted on very small basal sclerites which were slightly more distinct in the ovipara. The latter did not differ much from the common wingless female, even the hind tibiae being not dilated and bearing no sensoria. The rhinaria of the antennae were restricted in number, both in the ovipara and in the wingless viviparous female; they were small, but somewhat protruding. Joint 4 of the antenna was obviously short.

In the colony examined at the end of the season, the males were found to have disappeared already, so that no description can be given. Unfortunately the rose hedge was cut down by a new proprietor in the second ten-day period of March. The aphids had not yet hatched then. Mr VAN GIESSBERGEN succeeded in securing a piece of a branch containing an egg batch. This was fastened to a climbing rose in another garden. It was found, however, that, with few exceptions, the numerous eggs did not develop, but dried and shrivelled. It is therefore not possible to describe the fundatrix, which remains still unknown.

Pterochlorus rosae CHOL. is of hardly any economic importance. If control of the aphid were to become desirable, the colonies could certainly be destroyed by a parathion spray, or the egg batches could be killed by a local application of a 6% tar wash (carbolineum).

DISTRIBUTION OF PLANT INJURY DUE TO ORGANIC AIR POLLUTANTS

BY

F. W. WENT

Earhart Plant Res. Lab., Kerckhoff Lab. of Biology, California Inst. of Techn.
Pasadena, California

With increasing industrialization a number of plant disease problems have developed which did not exist before. Factories and other human activities are now producing toxic substances which are either disposed of in sewers or emitted into the air. Sewage disposal and stream pollution are now largely controlled but there are still grave problems in connection with air pollution.

The air pollutants which are best known and investigated in their effect on plants are all inorganic, such as SO_2 , HF, Cl_2 , etc. Their effects on plants have been investigated in great detail, and we know the conditions under which they cause damage to vegetation. They pose problems in the vicinity of smelters, chemical factories, and cities where large amounts of sulfur-containing coal is being burned. Because it is known that these inorganic products are so highly toxic, it has been customary to ascribe any damage to vegetation by air pollutants to these inorganic compounds.

Another type of damage is due to illuminating gas, which is found to be effective through its ethylene and carbon monoxide content. In natural gas these compounds are largely lacking and therefore such illuminating gas damage is not found in areas supplied with natural gas. Damage to lemons in lemon storage plants in California was found to be due to ethylene produced by infected fruit and by automobile exhaust gases when the storage plant was located too close to a major highway.

When in 1949 a large amount of crop damage, particularly to leafy vegetables, was found in the Los Angeles area and was connected with air pollution in that area, a new chapter in plant toxicity was opened. It was immediately concluded that this damage, which expressed itself as silvery or bronzing of the lower surfaces of spinach, beet, endive, and other leaves, was not due to any of the known air pollutants. An intensive cooperative investigation between the University of California, the Los Angeles County Air Pollution Control District, and the California Institute of Technology revealed that this damage was due to oxidation products of hydrocarbons. This damage could be duplicated in the laboratory by mixing gasoline vapors with ozone. This mixture contains peroxides and ozonides of hydrocarbons which in concentrations of 1 part in 10 million or less produce damage within a few hours exposure time (HAAGEN-SMIT et al. 1952).

At present the chemistry and kinetics of these oxidation reactions are being investigated in greater detail, and it is clear that gasoline and other hydrocarbon vapors are oxidized in the atmosphere under the influence of light through the catalytic action of nitrogen oxides. Whereas neither nitrogen oxides nor hydrocarbon vapors in concentrations usually present in the atmosphere are toxic by themselves, their reaction products are highly toxic. This gives rise to a completely new class of air pollution: namely, one in which the emission products are not toxic, but are toxified in the air. Therefore smokestack or exhaust pipe

analysis does not reveal the presence of any considerable amount of toxicity, whereas the atmosphere as a whole becomes highly toxic to plants.

The presence of these oxidized hydrocarbons is indicated not only by their toxicity to plants but also by a strong haze formation which is called smog in the Los Angeles area. In the following discussion the word smog will be used for this particular oxidized hydrocarbon damage to crops exclusive of any other constituents such as soot or SO_2 .

Smog in the Los Angeles area is particularly effective because of 1) the very large amount of gasoline consumed, with concomitant losses into the air; 2) the large oil refineries in the area; 3) an enclosure by a mountain range, preventing natural air drainage; and 4) the Pacific Inversion Layer, which confines all air pollutants within a relatively small volume of air.

Since in the Los Angeles area there are only minor emissions of HF and SO_2 , we do not find here the SO_2 damage which has been noted in cities like Pittsburgh and St. Louis. After recognizing the typical smog damage around Los Angeles, which is very distinct from any other industrial damage, it is now possible to recognize smog damage in other areas as well. During the last three years I have critically observed the vegetation and greenhouse crops in all places I visited, and some very clear-cut conclusions can be drawn.

In not a single place at a sufficient distance from metropolitan areas, was any smog damage found, e.g., Austin, Texas; Madison, Wisconsin; Ann Arbor, Michigan; Oak Ridge, Tennessee; southern, middle, or northern Sweden; the whole of the Netherlands; the environs of Nice, France, etc.

In a few cities damage to vegetation was observed which was not typical of smog damage; in Liege, Belgium, and Chicago, Illinois, for example. In Liege the damage seemed to be due to HF. In other large cities, however, typical smog damage to vegetables or tobacco was found: Berkeley, California; New York City; Philadelphia, Pennsylvania; Baltimore, Maryland; London, England. In all these cities the damage symptoms were undoubtedly produced by oxidized hydrocarbons. Damage was not found on each visit, as could be expected, because atmospheric conditions are only occasionally such that toxic concentrations collect. This is probably why I did not observe smog damage in Paris, but a reliable informant described plant damage symptoms which he occasionally had observed which indubitably were due to smog.

We come, therefore, to the conclusion that smog damage caused by oxidized hydrocarbons is nowadays a common occurrence in or near large cities where a sufficient amount of gasoline consumption gives the basis for this smog damage.

For experimental work with plants, it is important to exclude such smog from greenhouses and other growing rooms. This can be accomplished by passing all air through activated carbon before admitting it to the plants. If such air has been in contact with activated carbon for approximately one-tenth of a second, even fairly high concentrations of smog can be removed.

WAARNEMINGEN OMTRENT DE DWERGZIEKTE BIJ FRAMBOOS EN WILDE BRAAM II

With a summary: Observations on the Rubus stunt disease in raspberries and wild blackberries II¹⁾

DOOR

T. H. THUNG

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

INLEIDING

Op het 7de Internationale Botanische Congres te Stockholm in 1950 deelden ROZENDAAL, THUNG en VAN DER WANT (1) de eerste resultaten mee van de warmtebehandeling van dwergzieke frambozenstekken, die gedurende vier dagen vochtig in een thermostaat van 40 °C werden gehouden. Thans zijn na ongeveer 3 jaar de genezen planten, behandeld gedurende de winter 1949–1950, nog gezond gebleven. De lange duur van de toegepaste behandeling had het nadeel, dat saprophytische schimmels en bacteriën de stekken beschadigden en tot afsterving brachten. Gedurende 1950 en 1951 werd tevergeefs getracht met desinfectiemiddelen deze saprophyten te onderdrukken. Een warmtebehandeling gedurende veel kortere tijden, doch bij hogere temperaturen, is thans gebleken tot aanzienlijk betere resultaten te leiden. De uitvoering van deze proeven was grotendeels in handen van de Heer F. A. VAN DER MEER, technisch assistent van het I.P.O. Voor het door hem verrichte werk zij hier dank betuigd.

1. DROGE BEHANDELING IN PETRISCHALEN BIJ 46 °C

Van de wortels van éénjarige, in winterrust verkerende dwergzieke frambozenplanten var. Radboud afkomstig uit Princenhage, werden in Januari 1952 stukjes met knoppen ter lengte van 3–4 cm, geknipt. Van elke zieke plant werd het verkregen stekmateriaal apart behandeld, een deel werd als controle aangehouden en een ander deel in petrischalen met vochtig filtreerpapier in een thermostaat van 46 °C gebracht en op deze temperatuur gehouden gedurende een periode, variërende van 1 tot 3½ uur. Daarna werden de stekjes in bakjes met zand en turfmoel gelegd en in de koude kas geplaatst. Na opkomst in April–Mei werden de plantjes opgepot in potjes van ± 10 cm diameter, die onder glas werden ingegraven. Na ongeveer een week, waarin veel gelucht werd, werd het glas verwijderd. Vervolgens werden de planten eind Mei–begin Juni in de volle grond uitgeplant. Wegens gebrek aan tijd konden de controleplanten, die eveneens in bakjes en in potten onder glas waren geplaatst, pas een maand later in de volle grond worden uitgeplant, ten gevolge waarvan de groei achter bleef vergeleken bij die van de behandelde planten.

Veel controleplanten bleken aanvankelijk, evenals het grootste deel van alle behandelde planten goed door te groeien zonder de typische dwergverschijnselen te vertonen, hetgeen overeenkomt met de ervaringen van de eerder genomen proeven. Begin September echter begonnen in de controles steeds meer ziektesymptomen op te treden. Bij de laatste opname (3 October '52) waren nog niet alle controleplanten zichtbaar ziek; er mag evenwel verwacht worden, dat ze

¹⁾ Deel I verscheen in Tijdschrift over Plantenziekten 57: 108–114, 1951.

alle in het late najaar of begin volgend jaar dwergziektesymptomen zullen vertonen, gezien de ervaring der vorige jaren, toen geen enkele controleplant gezond bleek te zijn. De planten waren in insectenvrije ruimten opgekweekt, zodat geen nieuwe infectie plaats kon vinden. De behandelde planten uit de voorgaande jaren, die het eerste jaar gezond uitgroeiden, zijn gezond gebleven.

TABEL 1. Resultaat van behandeling van dwergzieke stekken in lucht van 46 °C

TABLE 1. Results of treatment of *Rubus stunt* diseased shoots in air at 46 °C

Proef Experiment	No van plant waarvan stek afkomstig <i>No of plant which produ- ced the shoots</i>	Duur der behandeling in uren <i>Length of treatment in hours</i>	Aantal uitgelopen stekken ¹⁾ <i>Number of sprouted shoots ¹⁾</i>		Planten vrij van symptomen ²⁾ 3/10/52 <i>Plants without symptoms ²⁾ 3/10/52</i>	
			behandeld <i>treated</i>	controle <i>untreated</i>	behandeld <i>treated</i>	controle <i>untreated</i>
1	48b	1	26/50 = 52%	11/50 = 22%	0/15 = 0%	0/11 = 0%
2	53a	1	49/57 = 86%	26/57 = 46%	8/41 = 20%	0/26 = 0%
3	49a	1 $\frac{1}{4}$	23/46 = 50%	8/46 = 17%	0/17 = 0%	2/8 = 25%
4	50b	1 $\frac{1}{2}$	38/49 = 78%	36/49 = 73%	2/34 = 6%	0/36 = 0%
5	51a	1 $\frac{3}{4}$	31/41 = 76%	18/41 = 44%	18/28 = 64%	6/18 = 33%
6	51b	1 $\frac{3}{4}$	22/41 = 54%	18/41 = 44%	19/19 = 100%	6/18 = 33%
7	52a	2	20/28 = 71%	13/28 = 46%	19/19 = 100%	3/13 = 23%
8	52b	2	22/28 = 79%	13/28 = 46%	22/22 = 100%	3/13 = 23%
9	48a	2	6/50 = 12%	11/50 = 22%	6/6 = 100%	0/11 = 0%
10	54a	2	52/70 = 74%	46/70 = 66%	1/50 = 2%	4/46 = 9%
11	55a	2 $\frac{1}{2}$	10/37 = 27%	15/37 = 41%	7/9 = 78%	0/15 = 0%
12	49b	2 $\frac{1}{4}$	34/46 = 74%	8/46 = 17%	22/22 = 100%	2/8 = 25%
13	50a	2 $\frac{1}{2}$	36/49 = 73%	36/49 = 73%	34/34 = 100%	0/36 = 0%
14	53b	2 $\frac{1}{2}$	43/57 = 75%	26/57 = 46%	12/38 = 32%	0/26 = 0%
15	56a	2 $\frac{1}{2}$	45/67 = 67%	19/67 = 28%	28/44 = 64%	0/19 = 0%
16	54b	2 $\frac{3}{4}$	49/70 = 70%	46/70 = 66%	48/48 = 100%	4/46 = 9%
17	57a	2 $\frac{3}{4}$	7/27 = 26%	17/27 = 63%	6/6 = 100%	0/17 = 0%
18	57b	2 $\frac{3}{4}$	7/27 = 26%	17/27 = 63%	7/7 = 100%	0/17 = 0%
19	55b	3	9/37 = 24%	15/37 = 41%	9/9 = 100%	0/15 = 0%
20	56b	3 $\frac{1}{2}$	17/67 = 25%	19/67 = 28%	15/15 = 100%	0/19 = 0%

¹⁾ Teller: aantal uitgelopen stekken; noemer: aantal behandelde stekken.
Number of sprouted shoots over number of treated shoots.
²⁾ Teller: aantal planten vrij van symptomen; noemer: aantal uitgeplante planten.
 Na het overplanten van de uitgelopen stekken zijn enkele exemplaren afgestorven, waar-
 schijnlijk als gevolg van mechanische beschadiging.
Number of plants without symptoms over number of planted plants.
Some of the developed shoots died after transfer to the sand probably by mechanical damage.

De resultaten zijn in tabel 1 opgenomen. Hier valt waar te nemen, dat de warmtebehandeling van 1 tot 2 $\frac{3}{4}$ uur bij 46 °C het opkomen der scheuten bevordert; langere behandelingen veroorzaken waarschijnlijk beschadiging met als gevolg een geringere opkomst. In hoeverre deze gevoeligheid voor een langere warmtebehandeling mede een gevolg is van de afwijkende physiologie der zieke stekken kan slechts worden nagegaan door stekken van gezonde planten een overeenkomstige behandeling te geven. Dit is nog niet onderzocht. Voor een praktische toepassing van de warmtebehandeling bij frambozenstekken is meer kennis op dit gebied gewenst. Het dan te behandelen materiaal zal immers niet alleen stekken van diverse zieke, doch ook van gezonde frambozenplanten bevatten. Omstreeks 2 $\frac{3}{4}$ uur moet de grens liggen, waarbij deze opkomstvermindering niet ernstig is, en zekerheid kan worden verkregen dat geen ziekte meer in het behandelde materiaal optreedt. Uit de tabel blijkt

een grote onregelmatigheid aanwezig te zijn met betrekking tot de aantallen genezen planten van de verschillende partijtjes als resultaat van de toegepaste behandeling. Zo blijken bij de proeven 6, 7, 8 en 9 alle planten genezen te zijn, terwijl de nummers 10, 11, 14 en 15 welke toch een langere behandeling ondergaan hebben, nog een groot aantal zieke planten te zien geven. Men zou dit kunnen toeschrijven aan mogelijke verschillen in ziektestadium tussen de planten, doch waarschijnlijker is het dat de stekjes tijdens de behandeling niet de gewenste temperatuur hebben aangenomen wegens de geringe luchtcirculatie in de petrischalen. De petrischalen, waarin de stekjes lagen, stonden in afzonderlijke stapels in de thermostaat.

TABEL 2. Resultaat van behandeling met water van 45 °C van dwergzieke stekken

TABLE 2. Results of treatment of *Rubus stunt* diseased shoots in water at 45 °C

Proef Experiment	No van plant waarvan stek afkomstig No of plant which produced the shoots	Duur der behandeling in uren Length of treatment in hours	Aantal uitgelopen stekken ¹⁾ Number of sprouted shoots ¹⁾		Planten vrij van symptomen ²⁾ 3/10/52 Plants without symptoms ²⁾ 3/10/52	
			behandeld treated	contrôle untreated	behandeld treated	contrôle untreated
1	60a	1	5/27 = 19%	9/27 = 33%	5/5 = 100%	2/9 = 22%
2	35	1	24/54 = 44%	23/54 = 43%	22/22 = 100%	1/23 = 4%
3	34	1	18/29 = 61%	22/24 = 92%	14/14 = 100%	3/22 = 14%
4	17	1 $\frac{1}{4}$	9/23 = 39%	6/23 = 26%	9/9 = 100%	0/6 = 0%
5	14	1 $\frac{1}{4}$	5/14 = 36%	5/14 = 36%	5/5 = 100%	2/5 = 40%
6	10	1 $\frac{1}{4}$	7/15 = 47%	11/15 = 73%	7/7 = 100%	2/11 = 18%
7	1	1 $\frac{1}{4}$	10/35 = 29%	0/35 = 0%	8/8 = 100%	0/0 = -
8	59a	1 $\frac{1}{2}$	21/40 = 51%	14/40 = 35%	17/17 = 100%	0/14 = 0%
9	32	1 $\frac{1}{2}$	7/22 = 32%	7/22 = 32%	7/7 = 100%	1/7 = 14%
10	22	1 $\frac{1}{2}$	3/24 = 13%	4/24 = 17%	3/3 = 100%	0/4 = 0%
11	20	1 $\frac{1}{2}$	12/26 = 46%	14/26 = 54%	12/12 = 100%	0/14 = 0%
12	15	1 $\frac{1}{2}$	8/23 = 35%	11/23 = 48%	7/7 = 100%	2/11 = 18%
13	7	1 $\frac{1}{2}$	8/17 = 47%	11/17 = 65%	6/6 = 100%	0/11 = 0%
14	2	1 $\frac{1}{2}$	4/14 = 29%	1/14 = 7%	2/2 = 100%	0/1 = 0%
15	26	1 $\frac{3}{4}$	12/34 = 35%	15/34 = 44%	10/10 = 100%	3/15 = 20%
16	23	1 $\frac{3}{4}$	5/26 = 19%	16/26 = 62%	5/5 = 100%	2/16 = 13%
17	16	1 $\frac{3}{4}$	11/30 = 37%	13/30 = 43%	11/11 = 100%	1/13 = 8%
18	12	1 $\frac{3}{4}$	12/36 = 33%	10/36 = 28%	9/9 = 100%	1/10 = 10%
19	9	1 $\frac{3}{4}$	13/34 = 38%	15/34 = 44%	12/12 = 100%	0/15 = 0%
20	5	1 $\frac{3}{4}$	18/36 = 50%	15/36 = 42%	17/17 = 100%	1/15 = 7%
21	60b	2	12/27 = 44%	9/27 = 33%	11/11 = 100%	2/9 = 22%
22	33	2	9/34 = 26%	19/34 = 56%	9/9 = 100%	1/19 = 5%
23	27	2	5/27 = 19%	18/27 = 67%	5/5 = 100%	1/18 = 6%
24	18	2	12/40 = 30%	14/40 = 35%	11/11 = 100%	0/14 = 0%
25	13	2	9/42 = 21%	16/42 = 38%	8/8 = 100%	0/16 = 0%
26	6	2	8/39 = 21%	24/34 = 70%	6/6 = 100%	10/24 = 42%
27	31	2 $\frac{1}{4}$	7/28 = 25%	13/28 = 46%	7/7 = 100%	10/13 = 77%
28	21	2 $\frac{1}{4}$	9/38 = 24%	18/38 = 47%	9/9 = 100%	3/18 = 17%
29	19	2 $\frac{1}{4}$	30/84 = 36%	52/84 = 62%	25/25 = 100%	2/52 = 4%
30	11	2 $\frac{1}{4}$	5/46 = 11%	2/46 = 4%	4/4 = 100%	0/2 = 0%
31	8	2 $\frac{1}{4}$	19/47 = 40%	12/47 = 26%	18/18 = 100%	5/12 = 42%
32	3	2 $\frac{1}{4}$	8/75 = 11%	11/75 = 15%	8/8 = 100%	0/11 = 0%
33	59b	2 $\frac{1}{2}$	2/40 = 5%	14/40 = 35%	2/2 = 100%	0/14 = 0%
34	29	2 $\frac{1}{2}$	10/59 = 17%	33/59 = 56%	10/10 = 100%	8/33 = 24%
35	30	2 $\frac{1}{2}$	12/60 = 20%	12/60 = 20%	11/11 = 100%	0/12 = 0%
36	24	3	11/72 = 15%	27/72 = 38%	10/10 = 100%	0/27 = 0%

¹⁾ Zie noot ¹⁾ van tabel 1. See note ¹⁾ of table 1.

²⁾ Zie noot ²⁾ van tabel 2. See note ²⁾ of table 2.

2. BEHANDELING MET WATER VAN 45 °C

Door de welwillende hulp van Prof. Dr E. VAN SLOGTEREN, aan wie wij hier-voor veel dank verschuldigd zijn, kon in Januari 1952 in een zgn. bollenkoker warmwaterbehandeling bij 45 °C worden toegepast gedurende een tijdsduur variërende van 1 tot 3 uur. Enkele kleinere partijtjes werden behandeld bij een temperatuur van 50 °C gedurende tijden lopende van 5 minuten tot 1 uur. De stekjes werden op dezelfde wijze als beschreven onder 1. gewonnen en op-gekweekt. De contrôleplanten konden hier gelijktijdig met de behandelde worden uitgeplant, nl. in Juli.

De resultaten zijn opgenomen in tabel 2 en 3.

TABEL 3. Resultaat van behandeling met water van 50° C van dwergzieke stekken

TABLE 3. Results of treatment of *Rubus stunt* diseased shoots in water at 50° C

Proef <i>Experiment</i>	No van plant waarvan stek afkomstig <i>No of plant which produ- ced the shoots</i>	Duur der behandeling in minuten <i>Length of treatment in minutes</i>	Aantal uitgelopen stekken ¹⁾ <i>Number of sprouted shoots ¹⁾</i>		Planten vrij van symptomen ²⁾ 3/10/52 <i>Plants without symptoms ²⁾ 3/10/52</i>	
			behandeld <i>treated</i>	contrôle <i>untreated</i>	behandeld <i>treated</i>	contrôle <i>untreated</i>
1	36	5	17/33 = 52%	17/33 = 52%	16/16 = 100%	1/17 = 6%
2	37	5	14/37 = 38%	28/37 = 76%	14/14 = 100%	0/28 = 0%
3	38	10	21/38 = 55%	25/38 = 66%	18/18 = 100%	0/25 = 0%
4	39	10	19/39 = 49%	33/39 = 85%	14/15 ³⁾ = 93%	4/33 = 12%
5	40	15	23/41 = 56%	28/41 = 68%	20/20 = 100%	2/28 = 7%
6	41	15	13/42 = 31%	31/42 = 74%	11/11 = 100%	2/31 = 6%
7	42	30	1/41 = 2%	20/41 = 49%	1/1 = 100%	6/20 = 30%
8	43	30	5/57 = 9%	11/57 = 19%	5/5 = 100%	0/11 = 0%
9	44	45	5/65 = 8%	10/65 = 15%	5/5 = 100%	1/10 = 10%
10	45	45	0/64 = 0%	32/64 = 50%	—	—
11	46	60	0/56 = 0%	33/56 = 59%	—	—
12	47	60	0/65 = 0%	41/65 = 63%	—	—

¹⁾ Zie noot ¹⁾ van tabel 1. *See note ¹⁾ of table 1.*

²⁾ Zie noot ²⁾ van tabel 1. *See note ²⁾ of table 1.*

³⁾ Waarschijnlijk 15/15, 1 plant was verdacht. *Probably 15/15, 1 plant was suspected.*

Zoals uit deze tabellen blijkt, is de invloed van de waterbehandelingen op de genezing zeer goed te noemen; de opkomst van de stekken is echter minder dan van die, welke een behandeling met warme lucht ontvingen, uitgezonderd de langste toegepaste warme lucht behandeling. Hieruit is waarschijnlijk af te leiden, dat het onderdompelen in water in het algemeen een slechte invloed heeft. Om dit te kunnen uitmaken, zou men stekken van dwergzieke planten gedurende verschillende tijden in water van lagere temperaturen moeten plaatsen. De regelmatigheid in de aantallen genezen planten wijst op een snelle door-dringing van de warmte via het water.

SAMENVATTING

Wortelstekjes van frambozenplanten, lijdende aan dwergziekte, werden op verschillende wijzen aan hogere temperaturen gedurende uiteenlopende tijden blootgesteld, daarna tot kieming gebracht en ten slotte uitgeplant op het veld. In een serie werd het zieke materiaal resp. 1, 1½, 1¾, 2, 2½, 2¾, 3 en 3½ uren in petrischalen met vochtig filterpapier in een thermostaat van 46 °C bewaard.

Het bleek dat een behandeling tot ongeveer $2\frac{3}{4}$ uur de kieming der stekjes bevordert ten opzichte van de onbehandelde contrôlestekken. Langere behandeling schaadde de kieming. Behandeling van $1\frac{3}{4}$ uur en langer leidde tot genezing van het materiaal. Onregelmatigheden in de resultaten zijn waarschijnlijk te wijten aan te geringe luchtcirculatie in de petrischalen, als gevolg waarvan de gewenste temperatuur niet of te kort werd bereikt.

In een tweede serie werd het materiaal resp. 1, $1\frac{1}{4}$, $1\frac{1}{2}$, $1\frac{3}{4}$, 2, $2\frac{1}{4}$, $2\frac{1}{2}$, $2\frac{3}{4}$ en 3 uren aan water met een temperatuur van 45°C blootgesteld. De opkomst van de stekken bleek minder dan bij de met warme lucht behandelde. Daarentegen was de genezing veel uniformer, aangezien alle planten, ook die welke korter dan $1\frac{3}{4}$ uur in het warme water hadden verkeerd, vrij bleken te zijn van symptomen. In een derde serie werden de stekken van 5 tot 60 min. in water van 50°C gedompeld. Alle behandelde planten groeiden gezond op.

SUMMARY

To study further the effect of heat treatments on „stunt” disease (1), small pieces of roots bearing shoots, taken from stunt diseased raspberry plants, were treated in different ways with high temperatures in January 1952. They were afterwards planted in sand in the greenhouse, and were transplanted to the field when the plants had developed sufficiently. As typical symptoms of the disease are slow to appear, observations were made during the whole summer, and for the last time on 3 October 1952.

In the first series the diseased shoots were kept in petri dishes, covered inside with moist filter paper, in an incubator at 46°C for periods of 1, $1\frac{1}{4}$, $1\frac{1}{2}$, $1\frac{3}{4}$, 2, $2\frac{1}{4}$, $2\frac{1}{2}$, $2\frac{3}{4}$, 3 and $3\frac{1}{4}$ hours. The results are summarized in Table 1. It is evident that heat treatment for about $2\frac{3}{4}$ hours or less stimulated the growth of the shoots as compared with the control shoots. A longer treatment proved to be harmful. Shoots treated $1\frac{3}{4}$ hours or longer produced in most cases plants which were still healthy on 3 October 1952. Irregularities in the results are perhaps attributable to poor circulation of air in the dishes, with the result that the expected temperature was not reached or was reached for too short a time only.

In the second series the diseased shoots were immersed in water at 45°C for periods of 1, $1\frac{1}{4}$, $1\frac{1}{2}$, $1\frac{3}{4}$, 2, $2\frac{1}{4}$, $2\frac{1}{2}$, $2\frac{3}{4}$ and 3 hours (Table 2). Growth of these shoots was less than the growth of those in the first series treated for $2\frac{3}{4}$ hours or less, but all plants which survived still appeared healthy on 3 October 1952.

Shoots which had been immersed for periods of 5 to 60 minutes in water at 50°C showed similar results (Table 3). All surviving shoots produced plants that were still free from symptoms on 3 October 1952.

From our experience that heat treatment of raspberry shoots leads to a curing of the disease (1), it may be concluded that the symptomless plants developed from shoots treated in these experiments are really healthy.

LITERATUUR

- I. ROZENDAAL, A., T. H. THUNG and J. P. H. VAN DER WANT. — 1950. Curing virus diseases by heat. Proc. VII Bot. Congress. Stockholm. In press.

STUDIES ON VENTURIA AND RELATED GENERA

BY

J. A. VON ARX

Phytopathological Laboratory „Willie Commelin Scholten“, Baarn

ABSTRACT

This article discusses the characteristics on which a natural system of classification of the *Pyrenomyces* must be based and then considers the family *Venturiaceae*, giving a key to the genera. The nomenclature and the synonymy of the genera and their type-species are briefly discussed.

INTRODUCTION

The Ascomycete group known as the *Pyrenomyces* is arranged by SACCARDO (1882/83) in his *Sylloge fungorum* according to the colour and the number of cells in the spores. He considered the number of cells in an ascospore as a valid characteristic for separating the families. The number of cells is indeed characteristic for certain groups; but *Ascomycetes* with two-celled spores for example may belong to different groups and an arrangement based only on this characteristic is artificial and can be compared with the arrangement of the higher plants by LINNAEUS, based on the number of stamens in the flowers.

Other authors, such as WINTER (1887) in Rabenhorst's *Kryptogamenflora* or LINDAU (1897) in Engler et Prantl, tried to establish a system of the *Ascomycetes* in accordance with natural characters. These authors specially considered the vegetative part of the fruiting-body and neglected the structure of the sexual part. They regarded as important, such characters for example, as the colour of the fruiting-bodies – whether dark or light: the position of the perithecia – whether separate or aggregated in a stroma: their situation in the substratum – whether immersed or superficial. This system, also, is of no phylogenetic value: it is as if we were to divide the *Phanerogams* into trees, shrubs and herbs: or into plants with or without green leaves.

In research on the *Pyrenomyces* it is very important that we distinguish clearly between the vegetative part (perithecial wall or tissue of the stroma) and the sexual part, the fructifications resulting from a copulation. A natural system has to be based upon the sexual phase, in this case on the structure of the perithecial centrum and the position of the asci in the fruiting-body: also, on the structure of the ascus-membrane and the mechanism by which the ascospores are ejected from asci and perithecia. Structure, colour and number of cells in the spores are also characteristic for many groups of *Ascomycetes*.

The structure of the vegetative part of the fruiting-body and its position in the host tissue should receive only secondary consideration in any systematic arrangement. The characters of the perithecial wall or the stroma have to be considered only in so far as they have some connection with the sexual phase. The form of the fruiting-bodies may be influenced by the nature of the substrate and modifiable characters of this kind are of no phylogenetic value.

In a review of the perithecial fungi it is necessary to consider the whole development and all elements of the structure and other characters of the fruiting-body. There are few researches on ontogenetic development in these fungi, so

our conclusions must usually be based on the morphological characteristics of the ripe perithecia.

THE CHARACTERISTICS OF THE VENTURIACEAE

Some genera of the *Pyrenomycetes*, whose relationships were partly recognized by VON HÖHNEL (1918) and elucidated and worked out by PETRAK (1924, 1947) have been taken together as *Venturiaceae*. The phylogenetic position of these fungi and their assignment to the *Pseudosphaeriales* have been discussed by MÜLLER and VON ARX (1950). The latter authors included in the family some other genera, which had previously been placed in rather widely different groups. The structure of the sexual parts of all members of the family corresponds very well. There is much less agreement between the vegetative stromata or the fruiting-bodies, with their divergent structure and different position in the host tissue.

The following morphological features are characteristic for the *Venturiaceae*:

a. Sexual part.

The ascospores are first hyaline or pale green; later they nearly always become olive-brown or greyish-green, rarely dark-brown, but remain translucent. They are ovoid or ellipsoid and two-celled. In many cases the transverse septum is not in the middle of the spore, but is displaced a little towards the bottom or the top, so that the spore is unequally two-celled.

The asci are elongated-oblong or nearly cylindrical, rounded at the top, sometimes a little broader in the lower third part. They have a rather delicate double membrane, with the same thickness throughout or apically slightly thickened, and contain 8 spores, rarely 4.

In the initially fully closed perithecium, the asci penetrate between a tissue of hyaline, parenchymatous cells or vertically arranged threads (pseudoparaphyses), which are connected above as well as below. When ripening, the perithecia or locules open by an apical pore, formed by histolysis of the usually thin-walled cells in the centre of the sometimes beak-like upper part of the perithecial wall. The pseudoparaphyses then loosen at their top, absorb water, elongate and fill the pore as gelatinous threads (Fig. 1). When ripe, the outer membrane of the ascus splits. The inner membrane is elastic and protrudes, and in consequence of this, the apex of the ascus reaches into the pore. As a result of the pressure inside, the spores break through the membrane, are ejected and the empty ascus collapses.

b. Vegetative part.

In the *Venturiaceae*, the stroma may have very different positions in the substratum; its development can take place either subepidermally or subcuticularly. The perithecia can be erumpent, or completely superficial, or innate with only a foot-like hypostroma. Characteristic of the *Venturiaceae* is the formation of a subcuticular flat hypostroma. This is either strongly developed, crustose and parenchymatous, or – especially in forms on leaves – reduced to a simple layer of light coloured cells. In some cases this layer is obliterated when the perithecia are ripening, and the conidia are then abstricted from the surface of a subcuticular stromatic cushion (Fig. 2).

The formation of hairs or setae on the fruiting-bodies or the existence of a superficial dematioid subiculum is characteristic of many *Venturiaceae*. Besides these forms there are also species with glabrous fruiting-bodies. However

characteristic setae or hyphae may be for many species, they are still not fitted for the classification of genera or species. The reason for this is that in one and the same species the fruiting-bodies may be found either glabrous or with appendices; the latter may also be inconspicuous and sometimes disappear at an early stage.

KEY TO THE GENERA

1. Perithecia sunken in the substratum, below the epidermis, mostly separate, communicating with the exterior by means of a papillate, glabrous or setose beak *Venturia*
- 1x. Perithecia or stromata subcuticular or erumpent or superficial 2
2. Perithecia or stromata subcuticular, glabrous, dimidiate or flat 3
- 2x. Perithecia or stromata erumpent or superficial, immersed with a hypostroma 4
3. Perithecia small, halved, separate *Stigmatea*
- 3x. Stromata flat or dimidiate, dothideaceous, with spherical locules
Atopospora
4. Perithecia small, glabrous, separate, innate in the stomata with a central foot. On Conifer needles *Phaeocryptopus*
- 4x. Perithecia rarely separate and then not glabrous, not on Conifers 5
5. Stromata superficial, innate in the substratum with a foot-like hypostroma. Stroma sterile in center, locules immersed in a marginal circle. Marginal hyphae present 6
- 5x. Perithecia superficial, on a sclerotium-like stroma or on a hypostroma or in a subiculum-like mass of hyphae 7
6. Stroma smaller than 300 μ , innate in the stomata. Spores hyaline
Trichodothella
- 6x. Stroma larger than 300 μ , innate in the epidermis. Spores olive-green
Trichodopsis
7. Perithecia marginal in a ring on a sclerotium-like stroma, which communicates with a subcuticular hypostroma. Marginal hyphae present *Lasiobotrys*
- 7x. Perithecia on a subcuticular or deeper, sometimes reduced hypostroma or in a subiculum 8
8. Hypostroma subcuticular, thin, skin-like, consisting of one layer of cells. Perithecia setose or hairy, mostly separated, on Rosaceae and Geraniaceae *Coleroa*
- 8x. Hypostroma consisting of several layers of cells, crustose 9
9. Perithecia separated, as well as the hypostroma glabrous, on Legumes
Parodiella
- 9x. Hypostroma with dematioid hyphae or perithecia setose or hairy or glabrous, mostly caespitose, not on Legumes 10
10. Perithecia without a beak, when ripe discomycete-like, opening by crumbling of the lower part of the perithecial wall. Asci standing parallel to the margin, surrounded by numerous pseudoparaphyses
Pseudoparodia
- 10x. Perithecia with a short beak or papillate or opening with a pore 11
11. Spores light coloured, greyish or olive-green, perithecia brown to dark, setose, hairy or glabrous, sometimes with a subiculum, on Ericaceae.

Caprifoliaceae, Rosaceae etc. *Gibbera*
 11x. Spores dark, sometimes black-brown, perithecia blue-black, mostly
 glabrous, hypostroma mostly covered with seta-like, dark hyphae; on
 Fagaceae *Neogibbera*

SYNONYMY AND TYPE-SPECIES OF THE GENERA

1. *Venturia* de Not. - Atti Sci. Ital. 6, 484 (1844) sensu SACCARDO (1882) et
 SHEAR (1948).

Syn.: *Phaeosphaerella* Karsten - Medd. Soc. Fenn. 16, 28 (1880) (teste PETRAK 1940)
Sphaerellopsis Klebahn - Haupt- und Nebenfruchtformen der Ascomyceten p. 168
 (1918)

Spilosticta Sydow. - Ann. Mycol. 21, 173 (1923) (by PETRAK 1947 used)

Endostigma Sydow. - Ann. Mycol. 21, 173 (1923) (teste PETRAK 1924, 1947)

Lectotype: *V. inaequalis* (Cke.) Winter (vide SHEAR 1948, MÜLLER et VON ARX 1950)

The genus *Venturia* includes most species in the family and among them are
 some very important plant pathogenic fungi. The conidial stages of the apple
 scab fungus *V. inaequalis* (Cke.) Winter and the pear scab fungus *V. pirina*
 Aderh. (Fig. 1) belong to *Fusicladium* (Fig. 2). A synonym is *Megacladosporium*
 Viennot-Bourgin. The conidial stage of *V. tremulae* Aderh. must be named
Pollaccia radiosa (Lib.) Baldacci et Cif.

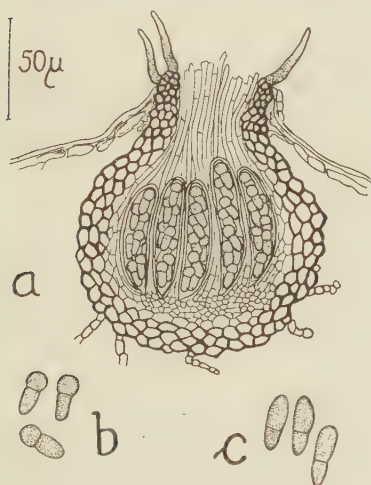


FIG. 1. *Venturia inaequalis*, showing
 (a) a perithecium in median
 section, (b) ascospores, (c)
 ascospores of *Venturia pi-*
rina.

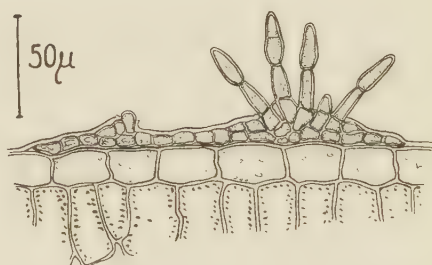


FIG. 2. The conidial stage of *Venturia*
inaequalis commonly known as
Fusicladium dendriticum (Wallr.)
 Fuck., showing a subcuticular layer
 of stromatic cells, conidiophores
 and conidia.

V. macularis (Fries) Müller et v. Arx must be considered the type species of
 the genus *Phaeosphaerella* Karst. In this species, the perithecial beaks are
 glabrous as well as setose. *Stigmathea confertissima* Fuck., the type species of the
 genus *Sphaerellopsis* Klebahn is, according to an original specimen, also a
 glabrous *Venturia* and is identical with *V. geranii* (Fries) Winter.

2. *Stigmathea* Fries - Summa Veget. Scandinav. p. 421 (1849).

This genus should be maintained, in accordance with the views of THEISSEN (1916), with *S. robertiani* Fr. as the type species. In this case, *Hormotheca* Bonorden is a typonym.

3. *Atopospora* Petrak – Ann. Mycol. 23, 100 (1925).

The type species *A. betulina* (Fr.) Petr. has been placed in *Dothidella* by WINTER (1887) and in *Euryachora* by THEISSEN et SYDOW (1915).

4. *Phaeocryptopus* Naoumov. – Bull. Soc. Oural d'Amis de Sci. Nat. 35, 20 (1915).

Syn.: *Adelopus* Theiss. – Ann. Mycol. 15, 482 (1917) (teste PETRAK 1938)

PETRAK (1938) re-introduced this genus with the type-species *P. nudus* (Peck) Petr. for the fungi mostly known as *Adelopus*. Figure 3 gives a diagram of *P. Gaeumanni* (Rohde) Petr., a parasite on needles of *Pseudotsuga taxifolia*. In this species, the spores remain hyaline.

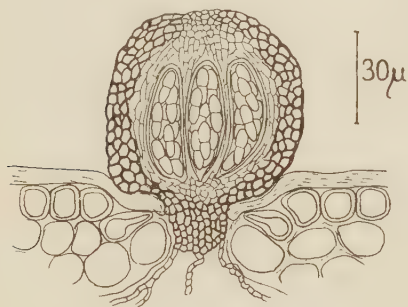


FIG. 3. *Phaeocryptopus Gaeumanni*, showing a perithecium in section, with asci and ascospores.

5. *Trichodothis* Theiss. et Syd. – Ann. Mycol. 12, 176 (1914).

The type species *T. comata* (Berk. et Rav.) Theiss. et Syd. and a new species have been described in detail by PETRAK (1947).

6. *Trichodothella* Petr. ap. Blumer – Ergebn. wissenschaftl. Untersuch. Schweizer. Nationalparks, Neue Folge 2, 36 (1946).

The type species *T. Blumeri* Petr. is a parasite on leaves of *Globularia* in the Alps; mostly found unripe or only poorly developed.

7. *Lasiobotrys* Kze. – Mykol. Hefte 2, 88 (1823).

All species later described seem to be identical with *L. lonicerae* Kze. Figure 4 gives a drawing of this fungus, parasitizing the leaves of *Lonicera*. Before ripening, the sclerotial body is loosened from the hypostroma by the pressure of the marginal hyphae and shot away. The small perithecia, situated in a ring, are closed at first and open, when ripe, by an apical pore.

8. *Coleroa* Rabenh. – Herb. Myc. no 1456 (1850) et Botan. Ztg. 9, 180 (1851).

The type-species *C. chaetomium* (Kze.) Rbh. is very variable. The summer form on living leaves has rounded superficial perithecia on a thin, subcuticular, skin-like hypostroma. The winter form has its perithecia subepidermal on the margin of a thick crust (see VON HÖHNEL 1918).

9. *Parodiella* Speg. – Fungi Argentini 1, 178 (1880).

The genus has been revised by THEISSEN AND SYDOW (1917) and by PETRAK (1947). A diagram of the type-species *P. perisporioides* (Berk. et Curt.) Speg. is given by HANSFORD (1946). All species grow on leaves of papilionaceous plants

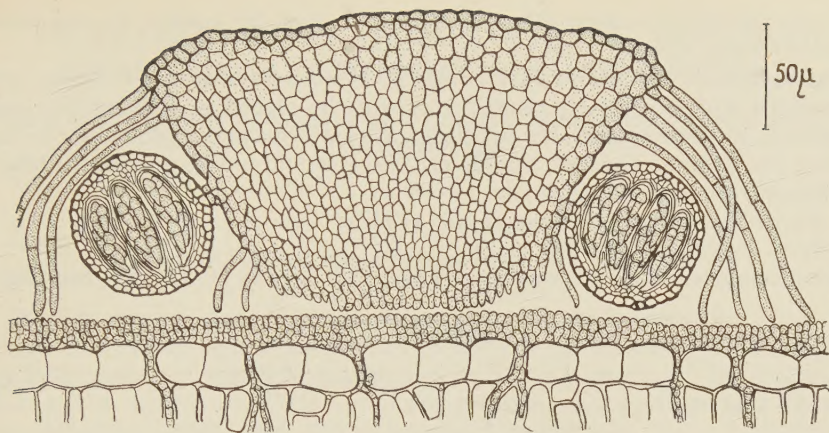


FIG. 4. *Lasiobotrys loniceræ*, showing hypostroma and sclerotium with two perithecia.

in the tropics, are very closely related, and perhaps should be reduced to synonymy with the type-species.

10. *Pseudoparodia* Theiss. et Syd. – Ann. Mycol. **15**, 138 (1917), vide PETRAK (1947).

The genus, with the monotypic species *P. pseudopeziza* (Pat.) Theiss. et Syd., has been placed in the *Discomycetes* by the authors. PETRAK (1947) recognized that this genus is related to the *Venturiaceae*.

11. *Gibbera* Fr. – Summa Veget. Scand. p. 402 (1849) emend. PETRAK (1947).

Syn.: *Antennularia* Reichenb. – Consp. Reg. Veg. Tent. **1**, 5 (1828) (teste PETRAK 1947)

Dimeriosporopsis P. Henn. – Hedwigia **40**, 173 (1901) (teste PETRAK 1947)

Dothidotthia v. Höhn. – Ber. deut. bot. Ges. **36**, 312 (1918) (vide PETRAK 1924)

Metacoleroa Petr. – Ann. Mycol. **25**, 332 (1927)

Montagnina v. Höhn. – Fragm. zur Mykologie no 488 (1910)

Pseudotthia P. Henn. – Monsunia **1**, 167 (1899)

Pyrenobotrys Theiss. et Syd. – Ann. Mycol. **13**, 628 (1915) (teste PETRAK 1947)

Xenomeris Sydow. – Ann. Mycol. **22**, 185 (1924)

Typespecies: *G. vaccinii* Fries

Many species of the genus are described in detail by PETRAK (1947). According to him, the genera *Dimerosporiopsis* P. Henn., *Antennularia* Reichenb. and *Pyrenobotrys* Theiss. et Syd. are synonymous and he characterized the genus in such a way that it should contain only species growing on *Ericaceae*. The type-species of *Pseudotthia* P. Henn., also on an *Ericaceae*, has been transferred to *Gibbera* by MÜLLER AND VON ARX (1950). Fungi with similar structure grow also on other families of the Phanerogams and the genera *Metacoleroa* Petr., *Montagnina* v. Höhn., *Dothidotthia* v. Höhn. and *Xenomeris* Syd. must be reduced to synonymy with *Gibbera*.

Metacoleroa Dickiei (Berk. et Br.) Petr. (= *Venturia Dickiei* Sacc. = *Coleroa linneae* (Dickie) Schröter) on *Linnaea borealis* is closely related to *Gibbera Engleriana* (P. Henn.) van der Byl or to *G. salisburgensis* Niessl and must be named *G. Dickiei* (B. et B.) comb. nov. PETRAK (1927) has given a detailed description of this fungus.

Montagnina examinans (Berk. et Curt.) v. Höhn. (= *Asterina examinans* B. et

C.) is an *Eu-Gibbera* (sensu PETRAK 1947) and must be named *D. examinans* (B. et C.) comb. nov.

The species of the genera *Pseudotthia* P. Henn., *Dothidotthia* v. Höhn. and *Xenomeris* Syd. are closely related and must be placed in *Gibbera* in a new subgenus. In these species, the perithecia are glabrous and a subiculum or free hyphae are lacking. On these characteristics, it would not be possible to base a full genus within the *Venturiaceae*.

12. *Neogibbera* Petrak – Sydowia **1**, 191 (1947).

Type: *N. hamata* (Penz. et Sacc.) Petr.

No specimens of the four species, described by PETRAK (1947) have been seen.

REFERENCES

- HANSFORD, C. G. – 1946. The foliicolous Ascomycetes, their parasites and associated fungi. C.M.I. Kew, Mycological paper no **15**: 1–240.
- VON HÖHNEL, F. – 1918. Mycologische Fragmente (no 290). Ann. Mycol. **16**: 172–174.
- LINDAU, G. – 1897. Pyrenomycetinae in ENGLER und PRANTL, Die natürlichen Pflanzenfamilien 1. Teil, Abt. 1, p. 321–505.
- MÜLLER, E. und VON ARX, J. A. – 1950. Einige Aspekte zur Systematik pseudosphaerialer Ascomyceten. Ber. Schweiz. bot. Ges. **60**: 329–397.
- PETRAK, F. – 1924. Mykologische Notizen VII. Ann. Mycol. **22**: 1–82 (109–116, 130–132).
- – 1927. Mykologische Notizen IX. Ann. Mycol. **25**: 193–343 (330–337).
- – 1938. Beiträge zur Systematik und Phylogenie der Gattung Phaeocryptopus Naoumov. Ann. Mycol. **36**: 9–26.
- – 1940. Mykologische Notizen XIII. Ann. Mycol. **38**: 181–267 (248–251).
- – 1947. Ueber die Gattung Trichodothis, Ueber Gibbera und verwandte Gattungen, etc. Sydowia **1**, 28–31, 101–103, 169–201, 280–282.
- SACCARDO, P. A. – 1882. Sylloge fungorum 1.
- – 1883. Sylloge fungorum 2.
- SHEAR, C. L. – 1948. Mycological notes IX. Mycologia **40**: 748–759.
- THEISSEN, F. – 1916. Stigmateaceae n. fam. Ann. Mycol. **14**: 426–430.
- – et SYDOW, H. – 1915. Die Dothideales. Ann. Mycol. **13**: 149–746.
- – 1917. Die Gattung Parodiella. Ann. Mycol. **15**: 125–142.
- WINTER, G. – 1887. Ascomyceten: Gymnoasceen und Pyrenomyceten. In Rabenhorst's Kryptogamenflora Bd. 1, Abt. 2.

DE BETEKENIS VAN 'DE ZGN. BEDERF-ASSOCIATIE VOOR DE LEVENSMIDDELEN-MICROBIOLOGIE

With a summary: The significance of the specific spoilage microflora for the food microbiology

DOOR

D. A. A. MOSSEL

(Centraal Instituut voor Voedingsonderzoek T.N.O., Utrecht)

In 1949 werden door Professor WESTERDIJK de reeds sedert jaren aan leerlingen en medewerkers bijgebrachte opvattingen gepubliceerd (12) in zake het optreden van zeer specifieke gezelschappen van schimmels bij het bederf van biologische materialen. Deze specifieke gezelschappen werden met de naam *associatie* aangeduid.

De associatie-opvatting is met name ook uitermate nuttig gebleken bij onderzoek, en ordening van bestaande gegevens, op het terrein der levensmiddelen-microbiologie. De hier volgende notitie beoogt hiervan een getuigenis te geven.

GENESE VAN DE ASSOCIATIES

Aan de navolgende factoren komt een beslissende rol toe bij het ontstaan van bederf-associaties (7):

1. Aan het *substraat* inhaerente factoren, zoals chemische samenstelling (nutrienten, pH, redox-potentiaal, antimicrobe componenten), structuur, winning en fabriekmatige behandeling (verhitting, toevoegingen, etc.);
2. Met de *omgeving* samenhangende invloeden, zoals eventuele beperking van infectie; relatieve vochtigheid, temperatuur en zuurstofspanning tijdens de bewaring;
3. Door de – uit hoofde van de factoren sub 1 en 2 – zich primair ontwikkelende *microflora* beheerste effecten, zoals relatieve ontwikkelingsnelheid, synergismen en of antagonismen.

Uit de micro-organismen, die voorkomen in de ubiquitaire dépôts grond, lucht en water, resp. in de specifieke dierlijke dépôts (vooral zoogdieren, vogels en insecten), zal nu door ieder substraat onder invloed van de boven aangegeven factoren een selectie worden uitgevoerd, waardoor uiteindelijk een vrij beperkte groep van micro-organismen resulteert, die het betrokken substraat min of meer sterk vermag aan te tasten. Daarbij dient in het oog te worden gehouden, dat deze associatie, zoals iedere biologische eenheid, een dynamisch karakter bezit; in de loop van het bederf van een gegeven substraat kunnen aldus enkele verschillende associaties elkaar opvolgen.

DE NORMALE BEDERF-ASSOCIATIES VAN DE VOORNAAMSTE LEVENSMIDDELEN

Karakter en omvang van deze notitie laten niet toe een compleet en gedocumenteerd overzicht te geven van de micro-organismen, die deel uitmaken van de bederf-associaties van onze levensmiddelen. Getracht is echter met onderstaande tabellarische samenvatting te illustreren, dat de WESTERDIJKSE associatie-opvatting ook op dit gebied van toepassing is.

Voedingsmiddel	Bij – onder de gebruikelijke omstandigheden van bewaring – optredend bederf voornamelijk waargenomen geslachten	Sleutelreferenties
Melk en melkproducten	Streptococcus, Lactobacillus, Microbacterium, Achromobacter et al., Bacillus	3, 1
Vlees en vis	Achromobacter, Pseudomonas, Micrococcus; Cladosporium	2, 8, 9
Groentes	Achromobacter, Pseudomonas, Lactobacillus, Bacillus, Clostridium	eigen onderzoek
Graan, meel en brood	Rhizopus, Penicillium, Aspergillus, Alternaria; Bacillus, Streptomyces	4, 12
Vruchten en sappen	Penicillium, Botrytis; Saccharomyces, Torulop- sis; Lactobacillus, Acetobacter	10, 6, 12
„Commercially sterile” vleesconserven	Bacillus; door insluiting in vet beschermde Mi- crococci en Clostridia	11, 5, 13

BETEKENIS VOOR DE PRAKTIJK

Het kennen van de bederf-associaties van levensmiddelen is van groot belang voor de praktijk. Een tweetal, aan eigen ervaring ontleende, voorbeelden mogen dit toelichten.

In een confijterij werd plotseling gisting in sterk gesuikerde en daardoor voor normale gisten onaantastbare producten waargenomen. De betrokken fabriek zag dit bederf in nieuwe partijen vrijwel niet meer optreden, nadat het advies was opgevolgd systematisch bijen te weren, waarvan bekend is, dat zij de – normaliter op fruit niet voorkomende – osmophile *Saccharomyces*-soorten overbrengen.

Een vleeswarenfabriek werd verontrust doordat een afnemer een partij worst terugzond omdat daarin „cocen” waren aangetoond. De fabriek kon worden gerustgesteld door het simpele verwijzen naar het feit, dat *Micrococci* behoren tot de normale associatie van vleeswaren.

SUMMARY

The concept of an „association” (specific spoilage microflora) for a given substrate under a given set of external conditions has been introduced in mycology by Professor WESTERDIJK (12).

It is shown that this concept is generally valid for the microbial spoilage of foods and that the knowledge of such associations may be extremely useful in the practice of food microbiology.

LITERATUUROPGAVE

1. GARVIE, E. I. & A. ROWLANDS, *J. Dairy Research* **19** (1952): 133.
2. HAINES, R. B., *J. Hygiene* **33** (1933): 175.
3. HAMMER, B. W., *Dairy Bacteriology*. New York, 1948, blz. 59–118.
4. JAMES, N., *Canad. J. Research* **24C** (1946): 224; **26C** (1948): 479.
5. LANG, O. W., *J. Infect. Diseases* **55** (1934): 39.
6. MARSHALL, C. R., & V. T. WALKLEY, *Food Research* **17** (1952): 123.
7. MOSSEL, D. A. A. & JOH^A WESTERDIJK, *Antonie van Leeuwenhoek* **15** (1949): 190.
8. SHEWAN, J. M., *J. Roy. Sanit. Inst.* **69** (1949): 394.
9. SULZBACHER, W. L., *Food Technol.* **5** (1951): 7.
10. TOMKINS, R. G., *J. Sci. Food & Agric.* **2** (1951): 381.
11. WEINZIRL, J., *J. Med. Research* **39** (1919): 349.
12. WESTERDIJK, JOH^A, *Antonie van Leeuwenhoek* **15** (1949): 187.
13. YESAIR, J., *Food Research* **11** (1946): 327.